Aus der Königlichen Universitätskinderklinik in München
Vorstand: Professor Dr. M. v. Pfaundler.

Hämatokrit-Versuche auf alter und neuer Basis

(mit Salzlösungen, Blutgiften und spezifischen Hämolysinen).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

N. Wertkin
(Rußland).

München 1914
Buchdruckerei Max Leutner, Augustenstraße 58.

Aus der Königlichen Universitätskinderklinik in München
Vorstand: Professor Dr. M. v. Pfaundler.

Hämatokrit-Versuche auf alter und neuer Basis

(mit Salzlösungen, Blutgiften und spezifischen Hämolysinen).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

N. Wertkin
(Rußland).

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

München 1914
Buchdruckerei Max Leutner, Augustenstraße 58.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent:
Herr Prof. Dr. M. v. Pfaundler.

Meinen lieben Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552320_0029

Einleitung.

Zahlreiche Versuche, von denen später eingehend die Rede ist, haben ergeben, daß die Mikroorganismen bei vielen Krankheiten außer ihrer spezifischen deletären Wirkung noch eine Nebenwirkung auf die roten Blutkörperchen ausüben, die entweder in der Herabsetzung der Resistenz* der Zellen ihren Ausdruck findet oder die Zellen völlig auflöst. Landsteiner und Leiner[2], welche die Haemolyse als eine auch im normalen Blute zu beobachtende, also physiologische Erscheinung ansprechen, erwähnen vielfach, daß der nach ihnen normale Vorgang bei verschiedenen Krankheiten pathologische Formen annehmen kann. Von den zahlreichen Untersuchungen der Widerstandsfähigkeit oder der lytischen Erscheinungen an den roten Blutkörperchen bei verschiedenen Infektionskrankheiten seien hier nur einige beispielsweise angeführt. Heubner[3] hat die teilweise Auflösung der roten Elemente im Blut bei Scharlach, Immermann[4] für Typhus, Leiner[5] für Diphtherie nachgewiesen. Von 30 Fällen von Infektionskrankheiten, über die Comus und Pagniez** berichten, haben 16 deutliche lytische Erscheinungen an den roten Blutkörperchen ergeben. Ascoli[6] hat bei allen von ihm untersuchten Infektionskrankheiten ausgeprägte lytische Erscheinungen festgestellt. Bezzola[7] konnte jedoch Veränderungen der Resistenz der Erythrozyten unter dreißig Fällen von Infektionskrankheiten nur dreimal nachweisen. Aber nicht nur infektiöse Krankheiten sind von Resistenzveränderungen der roten Blutkörperchen begleitet. Die Blutuntersuchungen bei Patienten, die an verschiedenen nicht infektiösen Krankheiten litten, haben vielmehr ergeben, daß auch da die roten Blutzellen verändert werden können. So hat Lang[8] z. B. gefunden, daß die Erythrozyten-Resistenz der an Magenkarzinom Leidenden höher ist als bei Gesunden. Besonders interessant sind die Versuche von Jacuszewsky[9], der eine Erhöhung der Resistenz bei vielen Krankheiten wie Diabetes mellitus, biliärer Leberzirrhose, katarrhalischem Ikterus, akuter Gicht und auch bei infektiösen Krankheiten

---

* Unter Resistenz im weiteren Sinne versteht man die Widerstandsfähigkeit der Erythrocyten gegen verschiedene äußere Einflüsse, seien sie nun physikalische, chemische oder biologische. Grawitz[1] unterscheidet zwischen einer „osmotischen" und „vitalen" Resistenz. Diese Unterscheidungen sind, wie wir weiter sehen werden, nicht ganz zutreffend.

** Zitiert nach Landsteiner und Leiner.[3]

nachweisen konnte. Maragliano[10] will die Ursache der Resistenzveränderungen auch bei nicht bakteriellen Prozessen auf Veränderungen im Serum zurückführen. Zweifellos kann aber die bald vermehrte, bald verminderte Widerstandsfähigkeit der Erythrozyten ein selbständiger, sozusagen autochthoner Prozeß sein, wobei das Serum ganz oder fast ganz intakt zu bleiben vermag. Die Veränderung der Resistenz scheint eine zweckmäßige Einrichtung des Organismus zu sein, der sich auf diese Weise gegen die schädigende Wirkung der verschiedenen, für die Blutkörperchen giftigen Substanzen schützt. Die Schutzeinrichtung konnte auch experimentell nachgewiesen werden (Sattler[11], Handrik[12]).

Es ist von vornherein einleuchtend, daß die Veränderung der Widerstandsfähigkeit der roten Elemente im Blute eine ganz verschiedene sein kann, je nach der Krankheit und der Schwere derselben. Ist dies der Fall, so müßte man in der Bestimmung der Resistenz ein wertvolles Hilfsmittel für die Diagnostik vieler Krankheiten haben. Diese Überlegung hat zu zahlreichen Untersuchungen auf dem Gebiete der Resistenzbestimmung geführt. Aber sämtliche Methoden, die bisher den Autoren zum Zwecke der Ermittlung des Resistenzgrades dienten, beruhen auf dem Prinzip des verschiedenen Verhaltens verschieden resistenter Blutkörperchen gegen Salzlösungen von variierender Konzentration. Aus Gründen, die später ausführlich auseinandergesetzt werden, haben diese Bestimmungen bisher keine erfreulichen Resultate ergeben. Allmählich ist man von dem Gedanken abgekommen, die Zählung der roten Blutkörperchen durch Resistenzbestimmung zu ersetzen*. Später ist man dazu gelangt, die Resistenzbestimmung überhaupt als völlig unzulängliches diagnostisches Hilfsmittel zu bezeichnen und im besten Falle nur als schwache Ergänzung für die Diagnose anzusprechen.

Das bisher Gesagte gilt, wie schon angedeutet, ausschließlich für Resistenzbestimmungen, welche mit Hilfe von Salzlösungen vorgenommen wurden. Nun bestünde vielleicht die bisher noch nicht geprüfte Möglichkeit, mit Hilfe eines (durch Verdünnung beliebig abzustufenden) spezifischen Hämolysins gegen Menschen-Erythrozyten die Resistenz der Blutkörperchen bei verschiedenen Krankheiten zu untersuchen. Es müßte sich bei derartigen Prüfungen um die Feststellung äußerst geringer Unterschiede handeln, die nur

* Koeppe,[13] ein ausgezeichneter Kenner der physikalischen Vorgänge im Blut, behauptet in kategorischer Form, es existiere kein Zusammenhang zwischen Erythrozytenzahl, Hämoglobingehalt und Volumen. Nägeli[14] bezeichnet sogar den Versuch, die Zählung der Erythrozyten durch Resistenzbestimmung zu ersetzen, als unwissenschaftlich.

mittels sehr feiner Untersuchungsmethoden ermöglicht würde*. Herr Privatdozent Dr. Uffenheimer ist seit längerer Zeit bemüht, auf Grund des soeben Vorgetragenen eine klinisch brauchbare Methode auszuarbeiten. Er hat einschlägige Versuche (die bisher nicht publiziert wurden) zusammen mit Dr. Hanashima bereits früher angestellt. Die Protokolle derselben wurden mir von Herrn Dr. Uffenheimer in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt, wofür ich an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank ausspreche. Die Versuche Hanashimas nun nahm ich auf Anregung von Herrn Dr. Uffenheimer auf und führte sie völlig zu Ende.

A. Geschichtlicher Teil.

1. Wesen der Resistenz.

Im Jahre 1867 hat Duncan[16] beobachtet, daß die roten Blutzellen bei verschiedenen Krankheiten die Fähigkeit verlieren, denjenigen Salzlösungen zu widerstehen, in denen normale Erythrozyten noch intakt bleiben, z. B. bei Chlorose. Malassez* war der erste, der solche Untersuchungen systematisch durchführte. Es folgen die Arbeiten von Chanels[17], Maragliano[18], Landois[19], Hamburger[20], v. Limbeck[21], Strauß[22], Babucke[23], Jacuszewsky[9], Ribierre[24], Lang[8], Jacuszewitz[25] und vielen anderen. Auch Tierexperimente wurden herangezogen. Diese erstrebten den Nachweis, daß die Verminderung der Resistenz wirklich eine Folge der Krankheit sei. Das ließ sich bei künstlich erzeugten Krankheiten leicht zeigen. So haben z. B. Jacoby[26] das Resistenzvermögen bei normalen und immuniserten Tieren untersucht, Itami und Pratt[27] bei experimentell erzeugter Anämie, Friedberger und Döpner[28] nach Darreichung von Alkohol. Manche Forscher haben sogar zeigen können, daß die Erythrozyten mit einer Erhöhung der Resistenz auf verschiedene Schädigungen des Organismus reagieren; so konnte Sattler[11] nach Injektion von Serum eines an Anämie erkrankten Tieres eine solche bei Meerschweinchen nachweisen.

Am Anfang schien sich das Wesen der Resistenzveränderung ganz leicht erklären zu lassen. Die genialen Entdeckungen auf dem Gebiete der physikalischen Chemie von Arrhenius, de Vries, van-t' Hoff und Hamburger führten zu der Annahme, daß die Schädigung der Totalität der Blutkörperchen oder andere Ver-

* Die für die Hämolysebestimmung übliche Skala, die von Ehrlich-Morgenrot (vgl. Hans Sachs[15]) aufgestellt ist: komplette, starke, mittelstarke Lyse usw., kommt hierfür — als zu wenig differenzierend — nicht in Betracht.

* Zitiert nach Sattler.[11]

änderungen, die infolge von äußeren Einflüssen im Leibe der Erythrozyten vor sich gehen, einfach auf physikalische Vorgänge zurückzuführen wären, nämlich auf das Verhalten des osmotischen Druckes. In der Tat konnte man mit ziemlicher Genauigkeit feststellen, daß es für die Lösung eines jeden Salzes eine bestimmte Konzentration gibt, in der die roten Blutkörperchen noch intakt bleiben. Die verschiedenen Salzkonzentrationen müssen denselben osmotischen Druck haben.* Auch das Blutplasma übt auf die Blutkörperchen einen osmotischen Druck aus, gleich dem einer Salzlösung von bestimmter Konzentration, was Hamburger die „Isotonie** des Blutes" nennt. Auch andere physikalisch-chemische Begleiterscheinungen wie z. B. die Gefrierpunktserniedrigung, die in einem engen Verhältnis zu dem osmotischen Drucke stehen, konnte man in analoger Weise beim Blutplasma wie bei den isotonischen Salzlösungen konstatieren. Diese Tatsachen haben vielfach zu weiteren Versuchen angeregt, um die Resistenzschwankungen für klinische Zwecke zu verwerten. Aber fast jede neue Untersuchung hat Enttäuschungen mit sich gebracht, und die Sache hat sich, statt geklärt zu werden, immer mehr verwickelt. Erst allmählich ist man dazu übergegangen, auch andere als die rein physikalischen Momente für die Erklärung des Wesens der Resistenz heranzuziehen. So hat anfangs der siebziger Jahre des vorigen Jahrhunderts Landois[19] beobachten können, daß die roten Blutkörperchen in ihrem Verhalten zum Plasma nicht streng den Gesetzen des osmotischen Druckes folgen.

Die weiteren Versuche haben immer deutlicher ergeben, daß die frühere Theorie von Hamburger, Koeppe u. a., welche die Resistenzverminderung oder sogar die Auflösung der roten Blutzellen ausschließlich mit den Gesetzen des osmotischen Druckes erklären wollten, nicht streng haltbar ist. Der erste, der auf diese

---

* Zur Herbeiführung einer isotonischen Konzentration sind nach v. Limbeck[29 30] und Hamburger[31,32] nicht nur für die verschiedenen Salze verschieden große Mengen nötig, sondern es ist auch die Salzkonzentration, in der das Blut des Tieres unveränderlich bleibt, für die einzelnen Tierarten verschieden. Um Vergleichwerte zu haben, schlägt v. Limbeck vor, immer dasselbe Salz zu gebrauchen. Trotz der größten Mühe und Sorgfalt gelang es ihm nicht in allen Fällen einheitliche Resultate zu erzielen. Er kam infolgedessen dazu, die mit den Versuchen von Mosso[33] übereinstimmende These aufzustellen, daß nicht jedes rote Blutkörperchen in seiner Qualität dem andern gleichwertig sei.

** Nach v. Limbeck[34] muß im Plasma immer ein Plus an Salzen sein, weil es sonst auch jede geringe Aufnahme von Wasser durch den Organismus zum Untergang der roten Elemente im Blute führen würde; v. Limbeck schlägt deswegen vor, statt „Isotonie" den Ausdruck „Hyperisotonie" zu gebrauchen. Im Prinzip bleibt es dasselbe.

Tatsache hingewiesen hat, war Hamburger[35] selbst. Er spricht schon im Jahre 1898 die Meinung aus, daß die Quellung tierischer und pflanzlicher Zellen nicht in der Weise erfolgt, wie man es nach den Gesetzen des osmotischen Druckes erwarten müßte. Ausführlich behandelt in mehreren Artikeln diese Frage Koeppe. Wenn Hamburger[36] noch im Jahre 1890 ganz allgemein annimmt, daß die roten Blutkörperchen in isotonischen Lösungen ganz unverändert bleiben, in hyperisotonischen nur H_2O abgeben, in hypisotonischen nur H_2O aufnehmen, so meint Koeppe,[37] daß auch andere Prozesse im Spiele sein können und zwar chemische; z. B. in einer NaCl-Lösung finde ein fortwährender Austausch zwischen Cl- und CO_2 Jonen statt, weshalb der Druck in den Blutscheiben sich ändere. Koeppe kommt auf Grund verschiedener Überlegungen, von deren Besprechung hier nicht die Rede sein soll, zu dem Schlusse, daß die Volumenänderungen der roten Blutkörperchen den Konzentrationsänderungen der sie umgebenden Flüssigkeit nicht proportional seien. Auch die Beobachtung von Janse,[38] daß die Blutkörperchen des defibrinierten Blutes sich anders verhalten als die des nicht defibrinierten, findet in chemischen Veränderungen ihre Erklärung. In seinem Vortrag auf dem 21. Kongreß für innere Medizin besprach Koeppe[39] verschiedene Arten von Hämolyse, wobei er den chemischen Faktoren mehr Platz zuteilt als den physikalischen. Das Wichtigste in den eben genannten Äußerungen Koeppes ist die Erörterung der Hämolyse durch fettlösende Substanzen. Durch die Fortschritte der Colloidchemie ist man allmählich dazu gelangt, anzunehmen, daß die roten Blutkörperchen von einer lipoiden Membran umgeben sind, die für die meisten Stoffe undurchgängig ist. Wirkt jedoch irgend eine giftige oder besser gesagt fettlösende Substanz auf die Membran ein, so verliert diese die Eigenschaft der Semipermeabilität und der Inhalt kann aus dem Blutkörperchen austreten. Das hängt in keinem Falle mit der Konzentration der einwirkenden Substanz im Sinne der Gesetze des osmotischen Druckes zusammen. Dafür sprechen die außerordentlich zahlreichen Versuche mit den sogenannten „Blutgiften". So wirkt z. B. Sapotoxin lytisch in Konzentrationen, die keineswegs eine Änderung des osmotischen Druckes hervorrufen können (siehe Tabelle 3). Ob das Gift direkt cytolytisch wirkt oder zuerst mit dem Cholestearin der Membran eine chemische Verbindung eingeht und dadurch die Löslichkeit des Stromas bedingt, ist für unsere Betrachtungen ohne Belang. Tatsache ist, daß die physikalischen von den chemischen Vorgängen streng getrennt werden müssen. Hämolyse tritt demnach ein entweder durch Platzen der Membran („Wand" von Hamburger, „Discoplasma" von Ehrlich) aus physikalischen oder chemischen Ursachen oder durch in der Membran sich abspielende lediglich chemi-

sche Prozesse. Bleibt die Wand in ihrer Ganzheit und chemischen Zusammensetzung intakt, so können Quellungs- oder Schrumpfungsprozesse infolge von Aufnahme oder Abgabe von H_2O Platz greifen, nicht aber kann es zum Inhaltsaustritt kommen. Ist die Membran aus physikalischen Ursachen geplatzt, so bleibt sie in ihrer chemischen Konstitution wesentlich unverändert, und es resultiert als Erythrozytenrest der „Blutschatten" (Ponfick[40]). Anders ist es, wenn die Wirkung eine chemische war. Hier bestehen folgende Möglichkeiten: Entweder kann das Gift die Widerstandsfähigkeit der Zelle in gewissem Grade herabgesetzt haben oder die Zelle primär aufgelöst haben („plasmotrope Wirkung" und „Plasmolyse" von Grawitz[1]) oder aber es kann primär nur die Membran zerstört gewesen sein, während die Giftwirkung auf das Innere der Zelle nur ein sekundärer Prozeß ist (Ransom[41]).

Vor der Fragestellung, inwieweit chemische Gifte die Resistenz der roten Blutscheiben beeinflussen, war es bis zur Untersuchung der Einwirkung biologischer Vorgänge auf dieselben nicht mehr weit. Zuerst zeigten Belfanti und Carbone*, daß das Serum mit Blutkörperchen fremder Art behandelter Tiere für die Spezies, der die Blutkörperchen angehörten, giftig sei. Bordet* einerseits und Dungern und Landsteiner* andererseits erwiesen dann ganz unabhängig voneinander, daß die Wirkung des Serums einer mit artfremden Blutkörperchen vorbehandelten Tierart auf den Organismus der blutliefernden Spezies dem Vorgange der Hämolyse in vitro entspricht. In der umfangreichsten Weise sind diese Probleme von Ehrlich und seinen Schülern bearbeitet worden. Ausgehend von der grundlegenden Pfeiferschen Theorie sowie den Anschauungen Buchners, Bordets, Landsteiners und anderer verfolgte die Ehrlichsche Schule die hämolytischen Vorgänge und kam zum Schluß, daß die roten Blutkörperchen durch Stoffe, die für jede Blutart streng spezifisch sind, aufgelöst werden können und daß die Hämolyse ein der Bakteriolyse ähnlicher Prozeß sei. Mit dem Anwachsen des Tatsachenmaterials wurde es immer schwieriger, der Hämolyse eine für alle ihre Arten passende Definition zu geben. Hans Sachs[15] definierte die Hämolyse folgendermaßen: Hämolyse = Austritt des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen, es bleibt das Stroma zurück. Aus all dem Gesagten geht aber klar hervor, daß diese Definition nicht genügend ist. Erwähnenswert ist noch eine andere Erklärung desselben Autors, daß die Hämolyse ein Zeichen des Protoplasmatodes sei. Sie kann aber keineswegs als Definition angesehen werden, viel eher als eine Umschreibung. Dasselbe kann man auch von einem

* Zitiert nach Ehrlich-Morgenrot.[42]

anderen Definitionsversuch sagen: Hämolyse = Null Resistenz. Es zeigt sich klar, wie sehr die Forscher berechtigt waren, von verschiedenen Arten der Hämolyse zu sprechen (Koeppe[39], Grawitz[1]).

Daß auch Bakterien hämolytische Substanzen erzeugen, ist zuerst von Ehrlich[43] im Jahre 1898 für den Tetanusbazillus („Tetanolysin") nachgewiesen worden. Später hat auf die auflösende Eigenschaft des Tetanolysins auch Madsen[44] hingewiesen. Große Verdienste auf dem Gebiete der Hämolyseforschung haben sich unter vielen anderen Kraus und Clairmont[45] erworben. Auf Grund zahlreicher Experimente haben diese Forscher nachweisen können, daß die Intensität verschiedener Hämolysine (bei Cholera, Tetanus usw.) je nach der Art der Erkrankung verschieden ist, und daß nicht alle Stämme einer und derselben Bakterienart lytisch wirken. Auch die Erythrozyten verschiedener Individuen verhalten sich gegenüber ein und demselben Hämolysin verschieden.

Sind die Erscheinungen der Hämolyse bzw. der Resistenzveränderungen der Erythrozyten in gewissem Grade klargelegt, so ist das Wesen der Resistenzveränderungen noch keineswegs erforscht, d. h. es ist nicht geklärt, in welcher Weise die Lysine die Blutkörperchen angreifen und warum die Art und Weise der Reaktion in den einzelnen Fällen verschieden ist. Zum Beweis, daß die biologischen Prozesse nichts mit den physikalischen zu tun haben, genügt der Hinweis auf die Versuche Rössles[46], welche ergeben haben, daß weder das Präparin noch das Alexin imstande sei, die osmotische Wirksamkeit des Stromas oder der Hüllschicht der Erythrozyten zu verändern. In demselben Sinne sprechen auch die Erscheinungen der Spezifität * der Hämolysine. Entschieden zutreffender ist die Identifizierung der biologischen Prozesse mit chemischen Vorgängen. Es ist hier nicht der Platz, auf die Resultate von zahlreichen einschlägigen Versuchen einzugehen, die zugunsten dieser Hypothese sprechen. Es sei nur darauf hingewiesen, daß die Anschauung, die Hämolysine seien (wie die Bakteriolysine Agglutinine usw.) chemische Zusammensetzungen, die mit den roten Blutkörperchen (oder anderen Zellen) Verbindungen eingehen, entsprechend den Gesetzen der Colloidchemie, immer mehr an Boden gewinnt.

2. Methodik der Resistenz-(Volumen-)Bestimmung.

Von den vielen Methoden, die dem Zwecke der Resistenz- bzw. Volumenbestimmung der roten Blutkörperchen dienen, die also für uns in Betracht kamen, seien hier nur diejenigen angeführt,

* Die Meinung Neißers,[47]) die Hämolysine unterscheiden sich nur quantitativ, ist von ihm selbst und Wechsberg[48] widerlegt.

welche die Haupttypen darstellen; die anderen Methoden erscheinen dann als Modifikationen der Haupttypen:

1. Eine ganz alte Methode stammt von Welcker[49]. Der Autor versucht, den mikroskopisch gemessenen Dimensionen der Blutkörperchen nach ihr Volumen zu bestimmen.
2. Eine weitere Methode ist die von Maragliano[10], welche auf Genauigkeit der Resultate am wenigsten Anspruch erheben kann. Maragliano glaubt nämlich, die Resistenz aus dem Verhalten der Blutkörperchen gegen eine bestimmte Temperatur ermitteln zu können. Er bettet dazu die Erythrozyten in Paraffin ein und setzt sie hauptsächlich der Wirkung von thermischen Einflüssen aus, aber auch der Eintrocknung, Kompression nach Behandlung mit Na Cl und anderen chemischen Agenzien.
3. Eine große Gruppe kann unter dem Namen „Schriftprobenmethoden“ untergebracht werden. Der Urheber dieser Methode ist ein russischer Forscher, Janowsky. Mit ihr und ihren Modifikationen sind zahlreiche Experimente angestellt worden, z. B. die oben genannten von Jacuszewsky[9], Lang[8] und vielen anderen; sie wird von Makaroff[50] als die vorzüglichste bezeichnet. Man bestimmt die Zahl (Thoma-Zeiß) der in einer hypisotonischen Lösung (z. B. 0,4% NaCl.) sich nicht auflösenden Blutkörperchen und vergleicht sie mit der Zahl der in einer isotonischen Lösung (z. B. 0,9% Na-Cl) in der Verdünnung 1:200 festgestellten Erythrozyten; in der hypisotonischen Lösung bleiben die Blutkörperchen etwa fünf Minuten. Nach der Bestimmung der Zahl der aufgelösten oder zurückgebliebenen Blutkörperchen berechnet man das Verhältnis zu der Zahl der in der isotonischen Lösung befindlichen. Den so erhaltenen Quotienten bezeichnet Janowsky als den „Resistenzgrad“. Der Name „Schriftprobenmethode“ rührt von Lang her, der diese Methode bedeutend umgearbeitet hat. Statt 0,9 und 0,4%iger Na-Cl-Lösung verwendet Lang Lösungen von 0,4 und 0,2%; er gibt von der zweiten Konzentration zu dem Blut so viel zu, bis man durch ein Gefäß von bestimmtem Kaliber eine unbekannte Schrift lesen kann. Der Resistenzgrad kann unter Zuhilfenahme von Tabellen dann berechnet werden. Die Methode ist in der allerletzten Zeit von Cohnreich[51] modifiziert worden und führt so schneller zu Resultaten, aber an Genauigkeit steht sie bei weitem hinter der ersten zurück. Wegen der zu groben Fehler, die übrigens von den Autoren selbst zugegeben werden, konnten wir uns selbstverständlich dieser Methode nicht bedienen.

4. Die vierte Gruppe ist, wie Nägeli[14] meint, im Prinzip die genaueste. Nur ist sie vorläufig noch so unbefriedigend ausgestaltet, daß von ihrer unmittelbaren Einführung in den klinischen Betrieb gar keine Rede sein kann. Sie beruht auf der Bestimmung des Volumens aus der elektrischen Leitfähigkeit des Blutes. Viele Autoren haben diese Methode nachgeprüft: Lacker[52], Rollet[53], Bernstein[54], Oker-Blom[55] und andere. Trotz ihrer leichteren Handhabung (die Resultate sind z. B. unabhängig von der Gerinnung des Blutes, wie Fränkel[56] angibt), erscheint diese Methode im großen und ganzen noch zu sehr problematisch und gehört im besten Falle der Zukunft an.
5. Zahlreiche andere Forscher haben weitere Methoden der Volumenbestimmung angegeben. Ich nenne nur Bleibtreu[57] (N-Bestimmung), Bunge[58] (Na-Bestimmung), Böninger[59], Liebermann und Fillinger[60], v. Welden*, Kottmann[61] (Viscosimetrie). Die Fülle von Methoden sowie die Tatsache, daß keine einzige in die Klinik sich einzubürgern vermochte, spricht mit Entschiedenheit für die Unverwertbarkeit derselben. Wir haben uns in unseren Versuchen an diejenige gewandt, die das Volumen der roten Blutkörperchen wenigstens in präzisen Zahlen anzugeben verspricht, nämlich an die Untersuchung mit dem Hämatokrit.

Unter Hämatokrit versteht man einen Apparat zur Volumenbestimmung der roten Blutkörperchen. Der Name stammt von Hedin[62], der auch der erste war, der den Apparat näher bearbeitet hat. Im Jahre 1885 berichtete Blix** in einer Vereinssitzung zu Upsala über verschiedene Punkte des Verhaltens der roten Blutkörperchen in diversen Flüssigkeiten, die von Einfluß auf das Volumen der Erythrozyten sein könnten. Er deutete daselbst die Grundlagen des Hämatokrit-Verfahrens an, das im wesentlichen auf dem Zentrifugieren des Blutes beruht. Im Jahre 1891 veröffentlichte Hedin seine Methode. Später wurde der Apparat vielfach modifiziert, zum Teil durch Hedin selbst, zum Teil durch Gärtner[63], Daland[64] u. a. Die Resultate waren aber äußerst unbefriedigend, so daß Biernacki[65] dazu gelangte, die Zentrifuge ganz bei dem Verfahren wegzulassen. Statt dessen ließ er das vermischte oder unvermischte Blut stehen, bis das Volumen der roten Blutkörperchen sich nicht mehr veränderte, und dann las er das Resultat ab. Es ist klar, daß das Vorgehen Bier-

* Zitiert nach Cohnreich.[51]
** Zitiert nach Hedin.[62]

nackis kaum auf irgendwelche Genauigkeit Anspruch erheben kann. Biernacki kam zu seinem Verfahren, weil er, insbesondere die Gärtnerschen Angaben kritisierend, glaubte, daß die Verwendung von ungleichen Mengen von Kaliumbichromatlösung (Gärtner läßt die Menge der Verdünnungsflüssigkeit außer Acht) auf das Resultat von Einfluß sein könnte, ebenso wie der Umstand, daß die Kreiselzentrifuge, die mit der Hand in Bewegung gesetzt wird, keine regelmäßige Umdrehungsgeschwindigkeit besitze, welche Fehlerquelle er durch das einfache Sedimentieren zu vermeiden suchte; auch trägt nach der Meinung Biernackis die schiefe Lagerung der Röhre während des Zentrifugierens nicht zur Genauigkeit der Resultate bei. Sei es aus den eben angeführten Gründen oder daß andere Faktoren im Spiele waren — die Fehler beim Zentrifugierverfahren waren immer zu groß, was die Einführung der Hedinschen Methode in die Klinik verhinderte.

In weitgehendem Maß lassen sich alle besprochenen Fehler bei der Hamburgerschen Methode vermeiden*. Hamburger[66] hat zuerst seine Methode für die Bestimmung des osmotischen Druckes sehr geringer Flüssigkeitsmengen verwendet. Später benutzte er sie auch für die Bestimmung der Residenz der roten Blutkörperchen („Echelle chromatique"). Die Methode hat ebenfalls mehrere Modifikationen erlebt und zeigt sich nun in ihrer definitiven Form folgendermaßen:

I. Statt der geraden zylindrischen Röhren von Hedin bedient sich Hamburger ausschließlich trichterförmiger, die unten zu einer Capillare ausgezogen und zugeschmolzen sind. Inhalt des Röhrchens etwa 3 ccm, Das Capillarrohr ist ca. 50 mm lang. Sein Inhalt 0,04 ccm. Es ist in 100 Teile kalibriert, so daß der Raum zwischen zwei Teilstrichen 0,0004 ccm beträgt.*

II. Die über 20 cm lange Pipette stellt eine Capillare dar von $^1/_4$ mm Lichtung. Die Capillare trägt die Marken 0,02, 0,04, 0,05 und 0,06. Das eine Ende der Pipette ist zu einer Spitze ausgezogen, das andere ist mit einem etwa 25 cm langen Gummischlauch versehen, der am Ende ein Glasröhrchen (oder Ebonitröhrchen) trägt. Dies wird beim Aufsaugen im Munde gehalten.

III. Für das Defibrinieren des entnommenen Blutes dienen kleine, luftdicht abgeschlossene Fläschchen, in denen sich Glas-

---

* Ich bespreche sie deshalb genau, weil wir selbst uns ja ihrer bedienten.

* Wir finden die Trichterform schon früher in Gärtners Hämatokrit. Bereits Gärtner[63] hat auf die Tatsache hingewiesen, daß das Zentrifugieren in einer Kapillare entschieden besser vor sich geht als in einer weiten Röhre.

perlen finden. Hamburger hält die Art des Defibrinierens mittels eines Glasstabes in einem Urschälchen für ungeeignet, weil damit CO_2 verjagt wird, wodurch die Volumenverhältnisse der roten Blutkorperchen in hohem Maße beeinflußt werden.

IV. Für das Filtrieren des Blutes sind dem Bestecke entsprechende Glastrichter beigelegt; ebenso

V. dünne zugespitzte Hornsonden zum Reinigen.

VI. Die Hauptverbesserung gegenüber den anderen Methoden besteht zweifellos in der Einführung der elektrischen Zentrifuge. Hamburger ist von dem bekannten Gesetze der Größe der Zentrifugalkraft ausgegangen, wonach diese dem Radius und dem Quadrat der Umdrehungsgeschwindigkeit proportional ist. Der Radius ist in der Hamburgerschen Zentrifuge 24 cm lang und die Umdrehungszahl 1800 in der Minute. Späterhin ist die Zentrifuge von dem Techniker Fr. Runne in Heidelberg wesentlich verbessert worden. Der Radius der Runneschen Zentrifuge beträgt 26 cm und die Umdrehungszahl 3—4000 in der Minute. Die elektromotorische Kraft ist 2 PS. Die Weite eines Metallgefäßes, deren vier am Apparate angebracht sind, beträgt 44 mm. Obwohl man bei engen Sedimentierungsgläsern kaum ein Aufwirbeln zu befürchten hat, empfiehlt doch Hamburger, die Leerscheibe an der Zentrifugierachse jedesmal anzubringen, um plötzliches Aufwirbeln zu vermeiden. Da das capillare Ende des Röhrchens, sobald es auf dem Metallboden ruht, leicht zerbricht, so schlägt Hamburger vor, diesen Teil der Röhre beim Zentrifugieren durch zwei bis drei aufeinanderpassende Löcher in entsprechend viel Korken von 1—2 cm Höhe durchgehen zu lassen. Das zugeschmolzene Ende muß außerdem 1 cm vom Boden entfernt sein. Die Bestimmung des Volumens (bzw. der Resistenz) der roten Blutscheiben geschieht nun wie folgt: a) das Blut wird nach der Entnahme in dickwandigen Fläschchen mit Glasperlen mehrmals umgeschüttelt, dann durch Filtrierpapier (nicht aber Gaze, weil viele Blutkörperchen in dieser stecken bleiben würden) filtriert; b) es folgt das Aufsaugen in der Pipette. Um die Schwierigkeit des Aufsaugens in eine enge Capillare wegen des eventuellen Eintrocknens des Blutes an der Wand zu vermeiden, befeuchte man diese mit einer Salzlösung. Es ist zweckmäßig, die Pipette schon vor der ersten Abmessung mit solcher Flüssigkeit zu benetzen. Vor dem Aufsaugen ist das Gefäß mit dem Blute jedesmal umzuschütteln, damit die Blutkörperchen sich in dem Blute

möglichst gleichmäßig verteilen, jedoch ist jede Spur von Schaumbildung peinlichst zu vermeiden. Nach dem Aufsaugen bis zur gewünschten Marke bringt man die Capillare in die horizontale Lage, damit kein Blut abfließe. Man trocknet dann das spitze Ende mit einem Tuch, nicht aber mit Filtrierpapier, dessen Saugkraft zu intensiv ist; um das Ablesen zu erleichtern, nimmt man als Hintergrund weißes Filtrierpapier. Bei günstigen Beleuchtungsverhältnissen — auch einen dunkleren Grund. c) Man fülle die Trichterröhrchen zuerst mit der entsprechenden Flüssigkeit (NaCl oder ein anderes Salz in isotonischer Konzentration). Dann folgt das Einbringen des Blutes von der Capillare aus. Es werden jetzt die Trichterröhrchen mit gut passenden Ebonitkäppchen luftdicht abgeschlossen, um einerseits die Vermischung von Blutkörperchen und Flüssigkeit leichter zu ermöglichen, und andererseits die Verdunstung von H_2O zu verhindern, besonders beim Zentrifugieren. Zum Zwecke der besseren Vermischung und des langsameren Überganges der Blutkörperchen in den capillaren Teil (sonst kleben sie sehr leicht an der Wand) läßt man die Röhrchen nach der Füllung eine Zeitlang vor dem Zentrifugieren stehen. Außerdem empfiehlt es sich, die gefüllten Röhrchen einige Male umzuschütteln. d) Was die Dauer des Zentrifugierens betrifft, so wird sie verschieden angegeben. e) Hamburger führt auch ein Verfahren an, wie man die Röhrchen am besten reinige. Man vermische mit Hilfe eines Platindrahtes das Sediment mit der Flüssigkeit und entferne dann den ganzen Inhalt; der capillare Teil wird dann mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, aber nicht mit Wasser, das Lyse hervorrufen kann. Erst später nimmt man destilliertes Wasser. Nach einer Reihe von Versuchen empfiehlt Hamburger, die Röhrchen mit einem Gemisch von Kaliumbichromatlösung und Schwefelsäure (etwas in dem Verhältnis wie in den Chromsäure-Elementen) zu füllen und für einige Stunden stehen zu lassen. Dann wird die Lösung entfernt. Das Trocknen geschieht mittels der Zentrifuge (Röhrchen mit der offenen Seite in die Zentrifuge stellen!), aber nicht im Trockenschrank.

Schon aus der Sorgfalt, mit der Hamburger seine Angaben macht, ist zu entnehmen, wie mühsam die Handhabung solcher Apparate ist, und wie oft die Genauigkeit, auf die es hier so sehr ankommt, darunter leidet. Auch die Modifikation des Hämatokrits von Koeppe[67] (Capillare und Trichterröhrchen in einem Gefäß!) ist für Volumenmessung wertvoll.

Wir stellten uns die Aufgabe: 1. die Methode an sich auf ihre Verwertbarkeit für die Resistenzbestimmung zu prüfen; 2. mit Hilfe des Hämatokriten spezifische Hämolyseversuche anzustellen. Es handelte sich also um reine Laboratoriumsarbeiten. Die Resultate derselben waren aber so unbefriedigend, daß wir von den geplanten weiteren Untersuchungen am Krankenbett ganz Abstand nahmen. Trotz der negativen Resultate sei es uns gestattet, auf sie einzugehen, weil die einzelnen Erscheinungen, die wir auf unserem Wege bemerkten, teils prinzipiell, teils aus technischen Gründen von Wichtigkeit sind.

B. Eigene Versuche.

1. Allgemeines von der Technik.

Mit Ausnahme des menschlichen Blutes holten wir alle Blutarten vom Schlachthofe. Die Tiere werden gewöhnlich zu einer fixierten Zeit geschlachtet, so daß man das „Alter" des Blutes nach dem Tode des Tieres auch genau bestimmen kann. Ganz anders ist es mit dem Menschenblut, das wir jedes Mal in der Frauenklinik entnahmen oder entnehmen ließen. War eine längere Zeit zwischen der Entnahme des Blutes und dem Versuche vergangen, so war es im Eisschrank aufbewahrt mit Ausnahme derjenigen Fälle, über deren Aufbewahrungsart spezielle Angaben gemacht sind. Für einen großen Teil unserer Versuche (siehe Tabellen 3, 4 und 5) verwendeten wir ausschließlich Blutkörperchen. Die Herstellung eines Blutkörperbreies ist wohl aus der Serologie bekannt. Da wir Blutkörperchen brauchten, die frei von Spülflüssigkeit waren, mußten wir mit äußerster Sorgfalt die Flüssigkeit oberhalb des Zentrifugates eliminieren, was aber nie vollständig geglückt ist. Kommt man mit einer Pipette beim Aufsaugen der Spülflüssigkeit bis auf 1—1½ cm dem Zentrifugate nahe, so wirbelt man die Blutkörperchen auf und man muß das Zentrifugieren wiederholen. Auch das Absaugen mit Fltrierpapier gibt keine guten Resultate. Wir sahen uns deswegen am Anfang gezwungen, auf größte Genauigkeit bei Abmessung der Blutkörperchen zu verzichten. Später (Tabelle 4 und 5) haben wir folgendes Verfahren eingeleitet. Sobald die überstehende Flüssigkeit nur noch die „gefährliche" Höhe von 1—1½ cm hatte, ersetzten wir die gewöhnliche Pipette durch eine feine Capillare. Hauptbedingung dabei ist außer dem feinen Lumen noch die kreisrunde Öffnung an der Spitze, die keine Zacken aufweisen darf, weil nur beim Eintauchen der ganzen Spitze in die Flüssig-

keit die Capillare ansaugen kann. Auch die Gefahr des Aufwirbelns ist dabei äußerst gering, da die Saugkraft der Capillare verhältnismäßig unbedeutend ist. Bei einiger Übung gelingt es auch mittels der Saugwirkung eines Gummiballons die Flüssigkeit in die Capillare aufzusaugen, wobei man auf einmal mehr als zwei bis drei Tropfen klare Flüssigkeit aufnehmen kann; jedoch ist die oben beschriebene Art sicherer, wenn auch mühsamer. Mag die zurückgebliebene Flüssigkeit noch so klein sein, so stellt sie doch eine gewisse Fehlerquelle dar; da es sich aber in unseren Versuchen um Vergleichswerte handelte, so kann man diesen Rest mit dem Blutkörperchenbrei gleichmäßig vermischen, ohne daß dies als allzu störendes Moment in Betracht gezogen werden muß. Aber dieses Verfahren läßt technisch viel zu wünschen übrig: 1. ist gewöhnlich der Brei so dicht zusammengepreßt, daß man tüchtig schütteln oder sogar mit einem Glasstab verrühren muß, um den Flüssigkeitsrest vermischen zu können (wodurch die Blutkörperchen trotz ihrer Weichheit und Modellierbarkeit nicht unbeträchtlich geschädigt werden können); 2. gelingt es nicht, konstant den gleichen Flüssigkeitsrest oder dasselbe Breiquantum zu erhalten (obwohl wir stets dieselbe Blutmenge auswuschen). Auch das Anzeichnen einer gewissen Stelle auf dem Zentrifugierglas, bis zu welcher Höhe man die Flüssigkeit immer abhebt, hat keine besseren Resultate ergeben. Wir haben deswegen ein anderes Verfahren eingeleitet. Wir verdünnten den Blutkörperchenbrei. Die Vorteile dieses Verfahrens sind: 1. mit einer größeren Flüssigkeitsmenge läßt sich der Brei leichter vermischen; 2. der Fehler ist um so kleiner, je größer die Verdünnung ist.*

Die Ausführung eines Versuches gestaltete sich folgendermaßen: Zunächst werden die Trichterröhrchen mit je 3 ccm Na Cl-Lösung aufgefüllt. Nachdem sich die Fibrinflocken in den mit Glasperlen gefüllten Gläsern zu Boden gesetzt haben, überführt man eine gewisse Menge des defibrinierten Blutes in ein anderes kleineres Gefäß. Wir bedienten uns eines großen Zentrifugiergläschens mit rundem, breitem Boden. Das Zentrifugiergläschen ist einem weiten offenen Gefäß (Uhrgläschen) vorzuziehen, weil es nicht zu sehr der Einwirkung der atmosphärischen Luft ausgesetzt ist. Es hat aber auch seine Nachteile: es ist unmöglich, nach dem Zentrifugieren exakt bis zu einer bestimmte Marke der Pipette aufzusaugen, weil diese während des Saugaktes von dem Zentrifugierglas umgeben ist, wodurch die Schärfe der Ablesung gestört wird. Um die eventuelle Sedementierung im Zentrifugierglas auszuschließen, wird es vor jedem Aufsaugen umgeschüttelt. Nachdem man die

* Nach Hedin[68] soll verdünntes Blut größeres Sediment geben. Ob dasselbe auch für Blutkörperchen zutrifft, mag dahingestellt sein. Jedenfalls haben wir dafür keine Anhaltspunkte.

Pipette bis nahe dem Boden eingeführt hat, saugt man möglichst bis an den gewünschten Teilstrich auf. Damit die Pipette in horizontaler Lage herausgezogen werden kann, neigt man das Zentrifugierglas zur Seite, sonst läuft der Inhalt der Pipette schnell in das Glas zurück, da doch das defibrinierte Blut bzw. verdünnte Blutkörperchen eine ziemlich dünne Flüssigkeit ist. Die genauere Abmessung der Blutsäule geschieht außerhalb des Zentrifugierglases. Solange das Quantum nicht eingestellt ist, behält die Pipette eine horizontale Lage. Zuerst aber muß ihre Spitze sorgfältig abgewischt werden. Versäumt man dies, so kann das Blut an der Spitze eintrocknen, und auf diese Weise im weiteren Verlaufe der Arbeiten zu Fehlern Anlaß geben. Das Abwischen des unteren Teiles der Pipette muß in der Richtung von der Spitze aufwärts, nicht nach außen zu, verlaufen. Sonst kommt man leicht an die Öffnung der Capillare und dann ist ein Mitnehmen von Pipetteninhalt fast unausbleiblich. Jetzt folgt das genaue Abmessen; bei einiger Übung gelingt dies ohne Schwierigkeit. Ist weniger als man gewünscht hat aufgesaugt, so muß selbstverständlich das notwendige Nachfüllen dem Reinigen der Spitze vorausgehen. Die Entfernung des Überschusses an Blut erfolgt durch mehrmaliges, aber jeweilig nur kurz dauerndes Abtupfen mit einem mehrfach zusammengelegten Leinentuche. Dann wird das Blut der Flüssigkeit zugesetzt.

Wir haben dem Rate v. Lämbecks[34] Folge geleistet und für unsere sämtlichen Versuche, wo es sich um isotonische Lösung handelte, immer dasselbe Salz, nämlich NaCl, verwendet*. Meistens wurden frisch hergestellte Salzlösungen, manchmal aber auch ältere gebraucht. Uns schien das „Alter" der Salzlösung von keiner Bedeutung zu sein (wir bewahrten die Lösung bei Zimmertemperatur in sterilen festschließenden Gläsern auf) und deswegen haben wir diesen Umstand in den Tabellen gar nicht notiert. Anders ist es mit dem Maß der Konzentration der Salzlösung. Es gibt keine Möglichkeit, für die vielen Blutarten, mit denen wir Versuche anstellten, etwa eine gleichkonzentrierte „isotonische Standard"-NaCl-Lösung ausfindig zu machen. Daher die Variationen hinsichtlich der Konzentration der Salzlösungen in unseren Versuchen. Wir blieben jedoch, uns auf die Angaben von Hedin, Hamburger, Koeppe und anderen stützend, innerhalb bestimmter Grenzen, nämlich zwischen 0,85 und 0.9 % und nur in äußerst seltenen Fällen überschritten wir diese Grenze. Zwischen 0,85 und 0,9 %iger Lösung konnten keine wesentlichen Unterschiede beobachtet werden. Wir wandten die 0.85 %ige Lösung, die wir für die am meisten geeignete hielten, auch am meisten an.

---

* Auch Hedin[68] steht auf dem Standpunkt, daß Na-Cl vorzuziehen ist, weil die Zusammenpressung der Blutkörperchen unter der Einwirkung dieses Salzes schneller vor sich geht.

Nach dem Ausblasen der Pipette bleiben immer noch Blutkörperchenreste an den Wänden hängen; es muß selbstverständlich Sorge getragen werden, daß solche Fehlerquellen vermieden werden. Das geschah in unseren Versuchen dadurch, daß wir die Pipette mit der Flüssigkeit in jedem einzelnen Röhrchen mehrmals nachspülten, bis sie augenscheinlich vollständig rein war. Man vergesse aber nicht, daß bei diesem Verfahren erhebliche Mengen von CO_2 eingeblasen werden (wiederum eine neue Fehlerquelle!) Wir werden später sehen, daß das Unterlassen des Nachspülens noch zu schlimmeren Fehlern führt. Das Reinigen der Pipetten zwischen der Füllung zweier Röhrchen war gleichfalls eines der Objekte der Untersuchungen. In der ersten Tabelle sind sämtliche Versuche mit ätherreiner Pipette ausgeführt, d. h. nach jeder Füllung eines Trichterröhrchens wurde sie mit KOH (oder Na OH oder NH_3), dann mit Wasser, destilliertem Wasser und schließlich mit absolutem Alkohol und Äther gereinigt. Die Ätherdämpfe wurden durch kräftiges Ausblasen oder mit der Saugpumpe entfernt. Das Zentrifugieren, Verschluß, Korkeinlagen, Stehenlassen nach der Füllung — alles geschah genau nach den Vorschriften von Hamburger[69], die schon oben erörtert sind. Wir haben ausschließlich die Runnesche Zentrifuge benützt. Was die Dauer des Zentrifugierens betrifft, so wechselte sie in den ersten Versuchen, während sie in den meisten weiteren konstant blieb, nämlich dort 45 Minuten. Gewöhnlich wurden vier Röhrchen zusammen zentrifugiert. Sehr viel Unannehmlichkeiten hat das Reinigen der Trichterröhrchen gebracht, da sowohl das Herein- wie das Herausbringen von Flüssigkeit sehr beschwerlich ist. Die Flüssigkeit soll mittels der dem Hamburgerschen Bestecke beigelegten Hornsonden oder mit einem Platindraht in die Capillare eingeführt resp. aus ihr herausgebracht werden unter mehrmaligem Hin- und Herschieben der Sonden. Diese Art des Reinigens nimmt für jedes Röhrchen 15 Minuten in Anspruch, also für das ganze Besteck (12 Röhrchen) drei Stunden! Um Zeit zu sparen, verfuhren wir schließlich anders; der kleine Finger wurde tief in den Trichter eingeführt und das Röhrchen mit ihm luftdicht abgeschlossen. Darauf wurde der Finger mit einem schnellen Ruck aus dem Glas entfernt und so die Flüssigkeit aus der Capillare mitgerissen. Auf diese Weise konnten wir das Reinigen eines Röhrchens in drei Minuten vollziehen. Andere Einzelheiten der Technik finden erst bei der Besprechung der Resultate ihre Erörterung.

2. Besprechung der Resultate.

Die Versuche, die wir angestellt haben, zerfallen in mehrere größere Gruppen, die dementsprechend auf verschiedene Tabellen verteilt wurden. Die Tabelle 1 umfaßt 49 Versuche. Sie bezweck-

ten nachzuprüfen, inwiefern die Hamburgersche Methodik für die Volumenbestimmung von roten Blutkörperchen im Blute brauchbar ist. Es sind in dieser Tabelle sowohl die Blutarten wie die NaCl-Lösungen in den verschiedenen Versuchen verschieden. Aber schon die in der Tabelle 1 niedergelegten Resultate haben sehr viele Enttäuschungen mit sich gebracht. Besonders traurig sind die allerersten Versuche ausgefallen. Während man z. B. bei Versuch Nr. 1 erwarten konnte, daß die etwas zu hoch konzentrierte Lösung (0,9 %) jedenfalls eine Schrumpfung der Zellen herbeiführen und das Volumen dadurch verringern würde, treffen wir gerade umgekehrt zu hohe Resultate. Überhaupt hat das Variieren der Salzkonzentration keine entsprechenden Resultate ergeben. Zwar haben die Röhrchen im Versuch 23, die mit 0,6% iger NaCl-Lösung aufgefüllt waren, höhere Werte gebracht als die mit 0,9 % iger Lösung beschickten, wegen der durch die niedere Konzentration hervorgerufenen Quellung. Aber die Versuche 39—46, die ebenfalls mit 0,6% iger NaCl-Lösung angestellt worden sind, ergaben ein ganz verworrenes Bild. Statt erhöhter Werte erhielten wir immer niederere (nur einmal 48,5, sonst ungefähr um 40). Allerdings sind diese Versuche mit 1 Tag altem Blute angestellt und nicht mit frischem, das eigentlich maßgebend sein sollte. Daß das „Alter" des Blutes von großer Bedeutung sei, haben fast alle Versuche ergeben. Vergleichen wir z. B. Versuch 27 und 35. Sie unterscheiden sich in ihrer Ausführung nur durch das „Alter" des Blutes und welche verschiedenen Resultate: bis 13 % Differenz! Die Versuche mit frischem Blut haben fast immer höhere Resultate ergeben als die mit älterem, und nur wenige machen davon eine Ausnahme (z. B. Versuch 24). Andererseits haben einige Versuche mit älterem Blute Resultate erzielt, die denen des frischen Blutes näher stehen, wie z. B. die R.* 5 — 8 in den Vers. 36 — 38.

Aus Literaturangaben konnte man schließen, daß die Art des Blutes von großer Bedeutung für die Resultate sein muß. Unsere Befunde aber waren auch in dieser Hinsicht so vieldeutig, daß wir zu keinem eigentlich klaren und scharfen Schluß gelangt sind. Bald hatten wir dieselben Resultate bei verschiedenen Blutarten (Versuch 7 mit Schweineblut und Versuch 10 (R. 1—4) mit Hammelblut), bald äußerst variable Ergebnisse bei Versuchen mit einer und derselben Art (z. B. R. 5 und 9 in Versuch 22). Um wenigstens eine Fehlerquelle auszuschließen, haben wir die zweite Hälfte der Versuche (auch alle Versuche der Tabelle 2) ausschließlich mit Pferdeblut** (das Blut, mit dem am meisten gearbeitet wurde) angestellt.

---

* R. = Röhrchen.
** Wir haben sonst sechs verschiedene Blutarten verwendet.

Wir bezweckten mit unseren in der ersten Tabelle verarbeiteten Versuchen, die Methodik von Hamburger nicht nur im großen und ganzen, sondern auch in ihren Einzelheiten nachzuprüfen; daher Vornahme oder Weglassen des Filtrierens, die Variation der Dauer des Zentrifugierens, der Gruppierung der Röhrchen beim Zentrifugieren und so fort. Am Anfang schienen die Resultate der Versuche mit filtriertem Blute entschieden befriedigender zu sein; wir erhielten nicht mehr so hohe Werte wie 100› * und dergleichen. Aber ebensogut fanden wir auch jetzt Unterschiede, auch in den Röhrchen einer und derselben Reihe von 2—7% (R. 1 und 7 im Versuch 27). In drei Versuchen — 36—38, R. 9—12 — ist nach dem Filtrieren Hämolyse eingetreten; ob sie sicher mit dem Filtrieren zusammenhängt, ist allerdings ohne weiteres nicht zu entscheiden. Ganz anders war es mit der Variation der Dauer des Zentrifugierens. Sie schien in den ersten Versuchen von keiner Bedeutung zu sein (Vers. 2 und 4 (R. 6—8) oder Versuch 8 (R. 1—3). Aber alle übrigen Versuche haben ergeben, daß die Resultate bei sonst gleichen Umständen von der Dauer des Zentrifugierens abhängig sind. Allerdings hat die Zusammenpressung der roten Blutkörperchen eine gewisse Grenze, die sich etwa nach 45 Minuten Zentrifugieren bemerkbar macht. Zu unterstreichen wäre vielleicht der Versuch 7, der trotz der relativ kurzen Dauer des Zentrifugierens Zahlen erwiesen hat, die sehr nahe den Angaben in der Literatur stehen (50%). Es sei noch darauf hingewiesen, daß das sofortige Zentrifugieren nach dem Mischen, wie es Daland[64] vorschlägt und wie wir es auch in unseren ersten Versuchen vorgenommen haben, sich nicht bewährt hat, und wir haben später immer vor dem Zentrifugieren die Röhrchen eine Zeit lang (etwa eine Stunde) bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Von besonderem Interesse ist der Umstand, daß die Resultate sich je nach der Gruppierung der zusammenzentrifugierten Röhrchen gestaltet haben (gewöhnlich wurden 4 Röhrchen der Nummernfolge nach zentrifugiert). Vergleichen wir die Resultate der Röhrchen, die miteinander zentrifugiert wurden, so haben wir Differenzen von in maximo 7%, während die Resultate der Röhrchen, die nicht miteinander zentrifugiert wurden, oft noch stärker differieren (z. B. Versuch 24). Eine Sonderstellung nimmt der Versuch 47 ein, in dem fast alle Faktoren, von denen bis jetzt die Rede war, Berücksichtigung fanden. Das R. 1 z. B. unterscheidet sich in diesem Versuch vom R. 8 durch die Salzkonzentration und die Resultate differieren ganz in dem Sinne der os-

* Mit 100› bezeichne ich den Stand der Blutkörperchensäule, wenn sie etwas den Teilstrich 100 überragt. Da dies mit dem Übergang in die Trichtererweiterung zusammenfällt, ist es unmöglich, die Zahl genauer abzuschätzen. Mit 100» wird die Blutkörperchensäule bezeichnet, wenn sie weit in den Trichter hineinragt.

motischen Verhältnisse. Umgekehrt lassen die Röhrchen 9 und 10 und 11 und 12 im Stich, deren Resultate eher im umgekehrten Sinne sprechen. Es wurden in diesem Versuche zum ersten Male diejenigen Röhrchen, deren Resultate man vergleichen wollte, zusammen zentrifugiert (nicht der Nummernfolge nach), ein Punkt, der besonders in den Versuchen der Tabelle 4 Berücksichtigung findet.

Es ist auch bei den Vers. 47—49 eine Zählung der Blutkörperchen vorgenommen worden, und zwar aus folgender Überlegung. Nehmen wir an, daß das Zentrifugieren beendet sei, so müssen die roten Blutkörperchen so aneinandergepreßt sein, daß sie den ganzen Raum ausfüllen. Sind die Zellen größer, so muß demzufolge eine kleinere Zahl derselben denselben Raum einnehmen. Befinden sich die Blutkörperchen in einer 0,6 %igen Salzlösung, so quellen sie auf. Das Volumen der einzelnen Blutkörperchen vergrößert sich, also muß die Zahl, auf 1 cmm reduziert, kleiner sein. Wir wollten dadurch erklären, warum das Volumen eines bestimmten Blutquantums in einer geringer konzentrierten Salzlösung fast doppelt so groß ist wie in einer höheren Konzentration. Die vorgenommene Zählung hat diese Überlegung aber nicht bestätigen können (Zählungen siehe in der Tabelle 1).

Die unbefriedigenden Versuche der ersten Tabelle sind mit NaCl-Lösung angestellt. Schafft man nun — so argumentierten wir — für die Blutkörperchen auch außerhalb des Organismus normale Verhältnisse dadurch, daß man sie in ihrem eigenen Serum zentrifugiert, so müßten die Resultate dementsprechend besser werden. Wir haben deswegen in unseren weiteren Versuchen — Tabelle 2 — zu der auf ihr Volumen zu untersuchenden Blutmenge statt physiologischer Kochsalzlösung 3 ccm homologes Serum zugegeben. Auch in dieser Reihe von Versuchen haben wir die gleiche Blutart verwendet, und zwar Pferdeblut. Wir haben aber das Alter des Blutes und die Zeitdauer des Zentrifugierens variiert, und zwar letztere so, daß wir in bestimmten kurzen Zwischenräumen (nach dem Vorschlage Friedheims[70]) nachgesehen haben, ob das Volumen sich immer noch ändere oder aber die Höhe der Säule konstant bleibe. Der Übelstand, daß bei jedem Abstellen der Zentrifuge die Blutkörperchen aufwirbeln können, ist kaum von Bedeutung. Außerdem haben wir nur bei einem Teil der Röhrchen in jedem Versuche dieses Verfahren eingeleitet, und zwar bei dem kleineren, so daß wir die Möglichkeit hatten, auch mit Ausschluß dieses (von uns gering geachteten) Nachteiles uns über die Resultate ein Urteil zu verschaffen. Wir haben ferner in allen Versuchen 0,06 ccm Blut abgemessen, weil die Menge des verwendeten Serums eine relativ große war (3 ccm). Sie ließ sich bei den Hämatokritversuchen schlecht verkleinern, weil die Trichter 3 ccm fassen. Eine Ausnahme bildet Versuch 2,

in dem das Serum nach dem Vorschlage Hamburgers[69] mit Wasser gemischt war, und zwar in verschiedenen Röhrchen abgestuft, damit wir beurteilen konnten, ob auf die Konzentration des Serums besonders großer Wert zu legen sei.

Sehen wir uns nun die Resultate dieser Tabelle an. Die ersten zehn Versuche sowie Versuch 13 zeigen viel besser noch, als dies in Tabelle 1 zum Vorschein kam, die Erscheinung, daß die Röhrchen, die miteinander zentrifugiert waren, übereinstimmende Resultate ergaben. Eine Ausnahme machen die Röhrchen 5 — 8 in Versuch 11 und 9 — 12 in Versuch 12: in einer und derselben Reihe Unterschiede von 12 — 14 %! Diese Ausnahme erklärt sich aber wohl zumeist durch das „Alter" des Blutes. Auch hier ergibt zwar das frische Blut höhere Werte, aber auch ein umgekehrtes Verhalten konnte beobachtet werden. So zeigten z. B. im Versuch 1 die Röhrchen 9 — 12 weit niedrigere Werte als die meisten anderen mit älterem Blut. Zu beachten ist ferner, daß das Konstantbleiben der Säule keineswegs von einer konstanten Zeit des Zentrifugierens abhängig war, gleichviel ob es sich um frisches oder um altes Blut handelte. Die Säule verändert sich nicht mehr bei frischem Blut nach 45, 15 (!), 50 Minuten usw.; bei zwei Tage altem nach 8, 20, 35 Minuten usw. Die Differenzen zwischen verschiedenen Zentrifugierreihen sind hier noch erheblicher als in der Tabelle 1. Das frische Blut stammte jedesmal von verschiedenen Individuen derselben Art; ist aber von älterem Blut die Rede, so handelt es sich um Blut, mit dem schon vor einem oder einigen Tagen Versuche angestellt worden waren. Das Blut wurde, wie schon erwähnt, im Eisschrank in der Zwischenzeit aufbewahrt. Die Differenzen der verschiedenen Versuchsreihen sind manchmal so groß, daß viele z. B. die R. 9 — 12 im Vers. 1 und R. 1 — 4 im Vers. 6 Unterschiede von 18 % ergaben, was unmöglich ausschließlich der verschieden langen Dauer des Zentrifugierens zuzuschreiben ist. Besonders muß ich noch betonen, daß bei allen Versuchen der Tabelle 2 filtriertes Blut genommen wurde (Ausnahme: Versuch 13). Unterschiede von 6 — 7 % sind sogar bei einem und demselben Blut und an einem und demselben Tag* beobachtet worden (R. 5 - 8 und 9 - 12 in Vers. 4). Eine Sonderstellung nimmt der Versuch 2 (Verdünnung des Serums mit H_2O) ein. Seine Resultate folgen genau den Gesetzen des osmotischen Druckes. Auch hier waren wie sonst je vier Röhrchen der Nummernfolge nach zentrifugiert worden. Trotzdem die Röhrchen einer und derselben Konzentration in verschiedenen Gruppen zentrifugiert wurden, zeigt das Volumen bei der gleichen Konzentration immer dieselben oder nur leicht differierende Resultate. Im Versuch 13 ist noch ein-

* Die Versuche, die einer Nummer der Tabellen angehören, sind stets an einem und demselben Tage ausgeführt worden.

mal die Probe gemacht worden, nicht filtriertes Blut zu verwenden; die hohen Resultate, die man dabei erhalten hat, sind sicher hierauf zurückzuführen.

Wollte man die Hamburgersche Methode auf die Ermittelung des Grades der spezifischen Hämolyse übertragen, so schien es angezeigt, vorher einmal zu prüfen, inwieweit diese Methode gegenüber einer stark hämolytisch wirkenden Substanz, deren Wirkung durch Verdünnung leicht abzustufen war, empfindlich ist. Wir benützten eines der bekanntesten Blutgifte, das Saponin. Wir verwendeten folgende Verdünnungen: 1:1000; 1:2000; 1:3000; 1:5000; 1:10 000; 1:20 000; 1:30 000; 1:50 000; 1:100 000; 1:200 000; 1:300 000; 1:500 000. Ich führe nur diejenigen Versuche an, die in unmittelbarem Konnex mit unserem Hauptthema stehen. Es kamen nicht nur die Resultate in den Hämatokritröhrchen untereinander zum Vergleich, sondern es wurde zumeist auch die hämolytische Wirkung des Saponins in Reagensgläsern (nach der üblichen Anordnung der Serologen) gleichzeitig geprüft. Die ersten 2 Versuche sind ausschließlich im Reagensglas angestellt worden unter Zugabe von 2 ccm einer jeden Saponinlösung zu einem bestimmten Quantum Blutkörperchenbrei, um zunächst festzustellen, wie weit sich eine Lyse im Reagensglase ergebe. In der Tabelle 3 sind die Prüfungen von vier Blutarten berücksichtigt.

Trotz der Verschiedenheit des Blutes decken sich die Resultate aber nur in den ersten zwei Versuchen (mit Ausnahme der R. 5 und 6) vollständig. Die folgenden Versuche sind teils im Reagensglas, teils im Hämatokrit angestellt worden und ergaben kein sehr zufriedenstellendes Resultat. In fast allen Versuchen (6—17) haben die ersten drei Verdünnungen komplette Lyse, die letzten vier meist keine Lyse mehr ergeben (alle diese in Reagensgläsern ausgeführt). Die Ablesungszeit nach Beginn der Versuche spielte keine wesentliche Rolle. Ein unregelmäßiges Bild ergaben die zentrifugierten Hämatokritröhrchen. Sehen wir uns z. B. eine bestimmte Blutart, also Menschenblut, an, so kann man weder von Eindeutigkeit noch von Regelmäßigkeit der Resultate sprechen. Auch daß Blutkörperchen älteren Datums weniger resistent gegen Saponin sind, haben unsere Resultate nicht bestätigt. Vergleichen wir sogar die extremsten Fälle (frisches und sieben Tage altes Blut), so haben sich in den Röhrchen 7 und 8 in den Versuchen 16 und 17 die älteren Blutkörperchen als die resistenteren herausgestellt. Auch aus Versuchen mit anderen Blutarten geht ähnliches hervor (Hammelblut: Versuch 8 und 13; Rinderblut: 9 und 15 u. a.) Besonders hinweisen möchte ich auf die in der Tabelle mit ? versehenen Röhrchen 8 im Versuch 10 und die R. 7 und 8 im Versuch 15, die nach Einwirkung von geringeren Konzentrationen des Saponins auf die Blutkörperchen stärkere lytische Erscheinungen ergaben als die vor

ihnen stehenden Röhrchen mit stärker konzentriertem Saponin. Die an den Blutkörperchen verschiedener Tierarten erhaltenen Resultate ergaben solche wesentliche Unterschiede, daß von einer Parallele der Hämatokritwerte nicht die Rede sein kann. Vielleicht ist es noch möglich, bis zu einem gewissen Grade von resistenteren Blutkörperchen zu sprechen. So kann man z. B. behaupten, daß frische Hammelblutkörperchen sich in unseren Versuchen resistenter gegen Saponin erwiesen haben als frische Pferde- oder Menschenblutkörperchen usw.

Eine besondere Stellung nehmen die letzten drei Doppelversuche ein. Sie sind sämtlich mit fünf Tage altem Menschenblut angestellt; auch die Blutkörperchenmenge blieb in allen Versuchen dieselbe. Verschieden ist nur die Dauer des Zentrifugierens und die Konzentration der Saponinlösungen. Sehen wir uns die Resultate im Versuch 18 an. Die Zahlen gehen gradatim aufwärts, aber die Differenzen in den korrespondierenden Röhrchen sind entschieden zu groß: 1 — 20 %! Anders gestaltet sich die Sache im Doppelversuch 19, wo das Bild der Resultate ein unregelmäßiges ist (trotz Abfallens der Saponinkonzentrationen bald höhere, bald niedere Blutkörperchensäulen). Vergleichen wir die Röhrchen mit korrespondierenden Konzentrationen in den letzten drei Doppelversuchen untereinander, so finden wir (bei einem Zentrifugieren von 15 Minuten) einen kleinsten Unterschied in der Säule von 19 % (R. 4 in Vers. 18 und R. 7 in Vers. 19) und einen größten von 51 % (R. 5 in Vers. 18 und R. 8 in Vers. 19).

Es tauchte bei den vielen beobachteten Differenzen die Frage auf: Sind vielleicht die Röhrchen oder die Pipetten nicht genau geaicht; in diesem Falle hätten allerdings dann regelmäßig in bestimmten Röhrchen analoge Differenzen auftreten müssen. Zur Kontrolle nahmen wir Volumenbestimmungen bei einigen Röhrchen und Pipetten vor. Zur Prüfung der Röhrchen wurde Hg und H_2O (dest.) herangezogen, zur Prüfung der Pipetten nur H_2O. Unter Berücksichtigung aller Kautelen (Ausschluß der Berührung mit den Fingern, Entfernung von jeder Spur von Flüssigkeit durch vierundzwanzigstündige Aufbewahrung im Exsikkator usw.) wurden die Röhrchen zuerst leer, dann mit Hg bis zum Teilstrich 100 aufgefüllt, gewogen und aus dem spezifischen Gewicht des zur Füllung verwendeten Mediums und der Temperatur (Ausdehnungskoeffizient) das Volumen mittels der Küsterschen Tabellen[71] berechnet. Mit Hg ergab das eine Röhrchen ein Volumen von 0,052273 und das andere von 0,045373. Da die Fehler sowohl absolut wie relativ zu groß waren, so wurde eine zweite Auswiegung unter denselben Kautelen mit destilliertem Wasser vorgenommen. Die Resultate waren für das erste Röhrchen 0,051835 und für das zweite 0,050035. Ist auch die absolute Zahl etwas zu hoch aus-

gefallen, so sind doch die Resultate in den beiden Röhrchen annähernd übereinstimmend. Das Auswiegen der Pipetten mit destilliertem Wasser hat für die eine Pipette des Besteckes ein Volumen von 0,04412 und für die zweite von 0,04657 ergeben, also wiederum angenäherte Resultate, so daß der Verdacht auf eine gröbere Ungenauigkeit des Besteckes nicht aufrecht erhalten werden konnte.

Von den Saponinversuchen sind wir wieder zu den Versuchen mit isotonischen Lösungen zurückgekehrt, und zwar wiederum zu NaCl-Lösungen mit dem Unterschiede gegenüber der ersten Tabelle, daß wir jetzt das Na Cl auf gewaschene Blutkörperchen einwirken ließen und nicht auf Blut. Wir haben für diese Versuche die ganze Fülle von Faktoren, die bisher sich als wichtig herausgestellt hatten, berücksichtigt. Um nachzuprüfen, ob und in welcher Weise sich der Einfluß der Temperatur auch während einer kurzen Zeit (3—6 Stunden) geltend macht, haben wir in einigen Versuchen entweder das Waschen und die Verdünnung des Blutkörperchenbreies vormittags vorgenommen oder aber auch nur das Waschen vormittags und das Verdünnen, Zentrifugieren usw. nachmittags. Schlechter sind die Resultate in denjenigen Versuchen ausgefallen, die nach dem ersten Modus angestellt wurden. Da hatten wir Fehler von 23% (R. 1 und 4 in Vers. 13), obwohl der verdünnte Brei im Eisschrank aufbewahrt war. Sehen wir uns dagegen den Vers. 11 an, in dem (bei den R. 5—12) nur das Waschen vormittags stattgehabt hat, und der Blutkörperchenbrei bis zum Verdünnen und Zentrifugieren der Zimmertemperatur ausgesetzt war, so finden wir hier ganz befriedigende Resultate. Absolut sind aber auch hier die Zahlen zu hoch: während man bei einer 75%igen Aufschwemmung von roten Blutkörperchen erwarten konnte, (da die Pipette bei 0,04 dasselbe Fassungsvermögen wie die Röhrchen besitzt) in der letzteren eine Säule ebenfalls von 75 zu finden, hatten wir in der Tat Zahlen von 77—78.

Aber auch in fast allen anderen Versuchen hatten wir die Erscheinung, daß die Blutkörperchensäule nicht der Füllung der Pipette entsprach. Wir haben deswegen versucht, das Nachspülen der Pipette etwas abzuändern bzw. ganz aus dem Verfahren auszuschalten. Auf diesem Wege konnten wir aber keine Verbesserung der Resultate erzielen. Als gänzlich unbrauchbar hat sich das Verfahren des Nachspülens der Pipette nur mit Na Cl-Lösung erwiesen. Der Versuch 8 möge als strikter Beweis hierfür dienen: Wir hatten hier Differenzen von 36% (R. 3 und 4). Vergleichen wir die Versuche mit einer ätherreinen Pipette und die mit einer nachgespülten, so war die Säulenhöhe, wie es zu erwarten war, in den ersten im allgemeinen höher. Der Prozentgehalt der Na Cl-Lösung wurde in diesen Versuchen nur wenig variiert. Die meisten

sind mit 0,85%iger Flüssigkeit angestellt. Die wenigen Versuche mit 0,89%iger Lösung haben (z. B. in den R. 9—12 des Vers. 10) niedere Zahlen ergeben. Was den Grad der Verdünnung des Breies betrifft, so schien er von fast keinem Einfluß auf die Resultate zu sein. Es ist ferner zu bemerken, daß die Gruppierung der Resultate nach dem Röhrchen, die zusammen zentrifugiert wurden, sich hier nicht als ganz zutreffend herausgestellt hat. Vielmehr sind die Resultate in den Röhrchen, die unter sonst gleichen Umständen angefertigt worden sind, einander viel nahestehender, auch dort, wo sie in verschiedenen Gruppen zentrifugiert worden sind. Als Beispiel möge der Vers. 18 dienen. In diesem sind die R. 5—12 sämtlich mit demselben Brei gefüllt und alle nachmittags zentrifugiert. Nun haben wir für die R. 5—8 den Blutkörperchenbrei aus zwei Zentrifugierröhrchen, für die R. 9—12 aus drei solchen gemischt. Es sind die Röhrchen nicht der Nummernfolge nach, sondern je zwei Röhrchen von jeder Gruppe zusammen zentrifugiert. Die Resultate haben sich aber der Füllung nach gruppiert, wenigstens für die R. 9—12 (die R. 5—8, die eigentlich bessere Resultate ergeben sollten — weil nur aus zwei Röhrchen gemischt — zeigten im Gegenteil viel schlechtere).

Noch eine Erscheinung konnte man bei diesen Versuchen beobachten, die sich bei den bisherigen nicht geltend gemacht hatte, das ist die Schichtung der Blutkörperchensäule. Wir hatten in dem einen Fall oben im Hämatokrit oberhalb der ablesbaren Säule (Vers. 14) eine tiefdunkelrote Stelle, und in dem anderen (Vers. 15) oben Lyse, in der Mitte dunkle, klumpige Stellen, unten dann die normal aussehende Säule. Überraschend war der mikroskopische Befund: Die obere Partie, die wir mit „Lyse" begutachtet hatten, weil sie durchsichtig, lackfarbenähnlich imponierte, hat sich unter dem Mikroskop keineswegs als solche herausgestellt. Es fanden sich nicht etwa Schatten; nur Größenverschiedenheiten der Erythrozyten konnte man wahrnehmen. Auch die dunklen Stellen haben unter dem Mikroskop ähnliche Bilder ergeben. Größenverschiedenheiten fanden wir sowohl im gefärbten wie ungefärbten Präparat, auch in vielen anderen Versuchen, welche solche Schichtungserscheinungen nicht aufwiesen. Auch keine Degenerationsformen im Sinne Roessles[46] (polygonale) haben sich nachweisen lassen. Immer hatten wir die Kugelform, die im Durchmesser oft wechselte.

Zum Schlusse möchte ich über die Versuche kurz berichten, welche als die wesentlichen gedacht waren (vergl. Einleitung): Mittels der Volumenbestimmung den Grad der Hämolyse bei Einwirkung verschieden abgestuften spezifisch hämolytischen Serums festzustellen. Diesem Zwecke dienten die Versuche der Tabelle 5. Die hämolytischen Sera wurden auf die gewöhnliche Weise (Men-

schen-, Pferde-, Hammel-Erythrozyten lösend) gewonnen. Wir brauchten für unsere Versuche nur schwach hämolytisches Serum, da dieses schon nach unseren Vorstellungen im Hämatokrit deutliche Ausschläge geben mußte. Da wir keineswegs uns ausschließlich mit den Hämatokritresultaten begnügen wollten, so haben wir uns auch des alten Verfahrens der Hämolysebestimmung zur Kontrolle bedient. Daß wir auch in diesen Versuchen mit der Blutart und dem „Alter" der Blutkörperchen variierten, ist klar. Was die Menge der roten Blutkörperchen betrifft, so haben wir nur in einem Falle in vier Röhrchen (9—12 in Vers. 4) 0,02 verwendet, sonst immer 0,04. Auch die Dauer des Zentrifugierens blieb in allen Versuchen dieselbe mit Ausnahme des Vers. 14. Sowohl die Reagensgläser wie die Hämatokritröhrchen wurden in der Regel im Brutofen zwei Stunden aufbewahrt und in Abständen von etwa 15 Minuten umgeschüttelt. Erst nachher wurden die Röhrchen zentrifugiert. Mit ganz kleinen Ausnahmen waren die Resultate dieser Tabelle am kläglichsten. Zuerst das Nichtübereinstimmen der Hämatokritröhrchen mit den Versuchen in den Reagensgläsern! Die Verdünnung z. B. 1:2000 ergab in den Versuchen 1, 3, 5, 7 und 9 Spuren oder keine Lyse. Dieselbe Verdünnung im Hämatokrit ergab immer noch Lyse. Allerdings wurde teilweise für die Hämatokritversuche etwas älteres Blut verwendet. Aber gerade der zweite Versuch im Hämokrit, der wie auch der Parallelversuch mit frischem Blut angestellt wurde, hat das weitgehendste Differieren der Resultate in korrespondierenden Verdünnungen erwiesen: z. B. ergibt das Röhrchen 10 noch bei 1:20000 Spuren von Lyse, während im Reagensglas die Lyse schon bei 1:3000 vollständig ausbleibt. Auch im Vers. 14, R. 12, ist dieselbe Erscheinung wahrzunehmen.

Die Versuche im Hämatokrit können auch für sich als kaum befriedigende bezeichnet werden. Bald steigt die Höhe der Blutkörperchensäule mit der fallenden Hämolysinkonzentration gradatim, bald zeigt sich ein plötzlicher Abfall, nachdem die Säule wieder in die Höhe geht, um zum Schluß oder noch vor demselben wieder nach unten zu sinken. Merkwürdig ist, daß der Versuch 14 trotz des nur 15 Minuten dauernden Zentrifugierens eine Ausnahme macht und vollständig klare Resultate gibt; aber das ist auch der einzige Versuch, der so ausfiel, wie es theoretisch ausgedacht war. Es ist schwer, bei solchen Resultaten von Vergleichswerten zwischen Blut und Blut (alle anderen Faktoren blieben immer dieselben) oder seinem „Alter" zu sprechen. Vergleichen wir die Resultate bei einer und derselben Verdünnung, z. B. bei 1:40, so finden wir folgende Zahlen: 7, 26, 82 (!) usw. Die stärkere Konzentration des Lysins wirkte manchmal weniger angreifend auf die roten Blutzellen als die schwächere. Zur Kon-

trolle wurde eine Anzahl Röhrchen, in denen sich stark verdünntes Hämolysin befand, nicht mit Alexin, sondern nur mit Na Cl-Lösung beschickt. Hierbei ergab sich keine Lyse. Das Alexin allein ohne spezifisches Hämolysin schien ein paarmal im Hämatokrit Spuren von Lyse zu erzeugen (R. 8 in Vers. 4 und R. 3 in Vers. 17 und 18). Zur Erklärung der unzulänglichen Arbeit des Hämatokrits gegenüber den spezifischen Hämolysinen kann wohl die Beeinflussung der Gestalt der roten Blutkörperchen durch das Hämolysin selbst (wie auch die Agglutination der Erythrocyten) herangezogen werden. Wir haben mikroskopische Untersuchungen in größerer Zahl vorgenommen, die solche Gestaltänderungen, allerdings nicht in klarer, gesetzmäßiger Anordnung, aufdeckten.

3. Zusammenfassung der Fehlerquellen.

Sind die Erythrozyten vom Organismus getrennt, so ist ihre Empfindlichkeit trotz der niederen Temperatur, in der man sie aufbewahren mag, keineswegs gering; vielmehr leiden sie unter Verdunstung, Lichteinwirkung, unmittelbarer Berührung mit der Luft oder endoglobulären Prozessen, die sich in den nunmehr vom Organismus getrennten Zellen abspielen. Jedenfalls sind manche erhebliche Differenzen bei unseren Versuchen auf diesen Umstand zurückzuführen.

Daß die Art des Blutes von großer Bedeutung für die Resultate sei, ist bereits früher vielfach gesagt worden; aber diese Fehlerquelle erscheint für unseren eigentlichen Zweck nicht besonders wichtig, da wir schließlich doch nur mit einer Blutart zu tun gehabt hätten; nämlich mit Menschenblut.

Von sehr großem Einfluß ist die Konzentration der zur Prüfung herangezogenen Salzlösung. Als beste oder sagen wir lieber als indifferenteste isotonische Salzlösung für die roten Blutzellen ist wohl die physiologische Kochsalzlösung* anzusprechen. Aber auch in diesem Punkte stießen unsere Versuche auf Schwierigkeiten. Unter der Einwirkung von nicht streng isotonischen Flüssigkeiten quellen die Blutkörperchen auf oder sie schrumpfen. Dieser Umstand ist, wie aus den Tabellen erhellt, einer der störendsten unter den äusseren Einflüssen. Koeppe[72] ist so weit gegangen, daß er sagt, in bezug auf das Volumen der roten Blutkörperchen lassen sich indifferente Lösungen überhaupt nicht aufstellen, weil keine konstante Über-

* Hedin[68] gibt an, daß die verschiedenen Salze, auch wenn sie isotonisch sind, Nebenwirkungen ausüben, z. B. die Zusammenpressung der Blutkörperchen geht in Bichromatlösung langsamer vor sich als in der Müllerschen Flüßigkeit, die Vergrößerung der Zellen kommt in der ersten eher und im höheren Grade zustande als in der letzteren.

einstimmung zwischen Plasma und einer Salzlösung existiere. Auch Hamburger[73] bemerkt, daß die roten Blutzellen auch in einer physiologischen Lösung nicht ganz unverändert bleiben. Schon in ganz kurzer Zeit wechselt der Austausch zwischen Blutkörperchen und Salzlösung außerordentlich.

Eine gewisse Bedeutung ist dabei dem CO_2-Gehalt der Blutkörperchen zuzuschreiben. Nach Hamburger[74] wirkt CO_2 befördernd auf die Permeabilität der roten Blutkörperchen. Die Sache läßt sich folgendermaßen erklären:* Das Alkali ist in den roten Blutkörperchen in der Form von Verbindungen von Metallen (hauptsächlich Na) mit eiweißartigen Stoffen enthalten (Zuntz[75]). Unter der Wirkung von CO_2 spaltet sich das Metall ab und es bilden sich kohlensaure Salze, vor allem Na_2CO_3. Die Folge davon ist, daß erstens durch Spaltung der Alkalialbuminate die osmotischen Verhältnisse im Innern der Blutzellen sich verschieben und zweitens die umgebende Flüssigkeit an Na_2CO_3 reicher wird, was in demselben Sinne wirkt. Wie Koeppe[76] hervorgehoben hat, sind die roten Blutzellen nur dann für CO_3-Jonen durchgängig, wenn andere äquivalente Jonen an ihre Stelle treten. Eine solche Möglichkeit liegt in unserem Falle vor. Denn die umgebende Flüssigkeit ist reicher an ClNa als die Blutkörperchen; es können also Cl-Jonen in die Blutkörperchen eindringen. Bleiben hierbei die Erythrozyten in bezug auf die Konzentration ihres Inhaltes unverändert, so ist dies offenbar nur möglich auf Kosten der sie umgebenden Flüssigkeit (von der sie Wasser zu diesem Zweck entnehmen müssen). Nichtsdestoweniger leidet darunter ihr Volumen. Statt eines jeden CO_3// treten 2 Cl/ hinein. Das Wasseranziehungsvermögen ist aber für jedes Jon das gleiche. Es müssen deshalb die an Cl/ reicheren Blutkörperchen mehr Wasser aufnehmen, d. h. aufquellen.

Die CO_2 übt noch eine direkte hämolytische Wirkung auf die Blutkörperchen aus, wie auch Weihrauch[77] betont. Vielleicht ist diese CO_2-Lyse als weitere Stufe der Quellung anzusprechen. Die allmählich steigende Wasseranziehung dehnt stark die Wand, die schließlich nicht aushält und platzt. Also, die Resistenz wäre in diesem Falle nicht von der chemischen Zerstörung des Discoplasmas, sondern von intrazellulären Prozessen abhängig.

Der CO_2-Gehalt ist aber nicht die einzige Ursache, die die Quellung veranlassen kann. So gibt Hamburger[69] an, daß wie auch die Flüssigkeit beschaffen sein mag, sei sie eine isotonische Salzlösung oder eine nicht dissoziable Zuckerlösung, Lymph- oder Ascitesflüssigkeit, immer nehmen die Blutkörperchen (in eine Flüs-

* Siehe auch Hamburger.[69]

sigkeit aus dem Serum hinübergeb·ıcht) dort die Kugelform an.* Letzteres ist u. E. von größter Bedeutung für die Volumenbestimmung. Während bei der Dellenform die Blutkörperchen die Möglichkeit haben, mit der konvexen Fläche in die konkave des anderen Körperchens, wie in eine Fuge sich hineinzulegen und dadurch die Zusammenpressung so weit wie möglich zu treiben, so ist ein solcher Vorgang bei der Kugelform undenkbar. Haben wir eine bestimmte Zahl der roten Blutkörperchen, die bei der Dellenform ein bestimmtes Volumen einnehmen, so müssen sie beim Übergang in die Kugelform, auch wenn sie ihren ursprünglichen Durchmesser behalten, ein größeres Volumen in Anspruch nehmen. Geschieht der Übergang nur zum Teil, was von der Resistenz der einzelnen Blutkörperchen abhängen könnte, so vermögen wir uns wohl eine Reihe von Stadien zu denken. Es ist eine bekannte Tatsache, daß das Porenvolumen gleichgroßer fester Körper in einem gegebenen Raum unabhängig von ihrer Größe im einzelnen (z. B. Grobkies und Feinsand) fast gleich groß ist. Sollte also die Kugelform zu einem Durchmesser führen, der nur von Fall zu Fall, nicht aber von Zelle zu Zelle wechselt, so würde uns das gleichgültig sein können. Es wäre dann einerlei, ob die Zellen sehr groß oder ganz klein wären. Aus unseren mikroskopischen Untersuchungen (siehe Tabelle 4 und 5) ist aber zu entnehmen, daß in jedem einzelnen Fall die Größe der in Kugelform übergegangenen Zellen äußerst variabel war, also auch das Porenvolumen und damit auch das Gesamtvolumen sehr verschiedene Größen darstellte.

Ob die Quellung das einzelne Blutkörperchen in seinem Volumen geradezu vergrößert oder im Gegenteil sogar verkleinert, ist nicht ganz leicht zu entscheiden. Quincke[78] z. B. gibt an, daß das Volumen eines gequollenen Körpers kleiner als das ursprüngliche sei. Hier ist aber nicht nur die Volumenänderung von Bedeutung, sondern auch die von Wiedemann und Lüdeking[79] beschriebene Tatsache, daß Temperaturentwicklung eine wesentliche Begleiterscheinung der Quellung ist. Es kommt allerdings da nicht zu so hohen Temperaturen, die Lyse hervorrufen könnten. Aber daß auch kleine Temperaturerhöhungen Dehnung der Blutkörperchenwand und Beschleunigung der intrazellulären Prozesse herbeiführen können, ist nicht unwahrscheinlich. Nach Ludwig[80] wird dabei die Kohäsion der Moleküle in den Blutkörperchen angegriffen, die Moleküle werden gelockert und außerdem leidet darunter die Elastizität der Wand.

Hat das Defibrinieren in geschlossenen Gefäßen die Möglichkeit der Luftinfektion (die bekanntlich zu Hämolyse

* Roessle[46] meint, die Kugelform stelle den intensivsten Grad der Schädigung der Erythrozyten vor ihrem Lackfarbenwerden dar.

führen kann) fast ausgeschlossen, so müssen wir doch auch gegen dieses Verfahren ein Bedenken erheben: Unter der Einwirkung der Glasperlen können die Blutzellen mechanisch geschädigt werden.

Wir gehen zum Filtrieren des Blutes über. Trotz der Tatsache, daß die corpusculären Elemente ebensogut das Filter passieren wie das Serum, unterscheiden sich die Resultate bei filtriertem und nicht filtriertem Blut manchmal sogar sehr beträchtlich; vielfach werden die Blutzellen beim Passieren durch die Reibung oder die eventuelle Erwärmung geschädigt.

Aus den Tabellen ist unmittelbar zu entnehmen, daß frisches Blut durchschnittlich höhere Werte ergab. Diese Steigerung ist jedoch wahrscheinlich nur eine scheinbare. Wäscht man frische Blutkörperchen aus, so genügt es, zweimal mit NaCl-Lösung zu zentrifugieren, um eine klare Flüssigkeit oberhalb des Zentrifugats zu erhalten. Wäscht man aber altes Blut aus, so muß man die Prozedur sieben- bis achtmal wiederholen, um dasselbe Ziel zu erreichen: Die Flüssigkeit bleibt nach dem 3.—4. Mal immer noch rötlich (nicht gelblich, welche Farbe das Serum bedingt). Die Verfärbung rührt offenbar von den minderwertigen Blutkörperchen her, die zum größten Teil bei dem längeren Waschen entfernt werden. Es ist jedoch nach unseren Resultaten unmöglich, eine klare Regel in bezug auf das Verhältnis zwischen „Alter" und Resistenz aufzustellen.

Ferner ist von großer Wichtigkeit für das Resultat die jeweilig aufgesaugte Menge von Blut- oder Blutkörperchen. An eine automatische Abmessung des Quantums, wie es etwa mit Hilfe der Mayschen Blutzählungspipetten möglich wäre, ist hier nicht zu denken, weil wir bei den verschieden großen Fassungsvermögen dieser Pipetten nie eine Uebereinstimmung derselben mit dem Trichterröhrchen erzielen könnten. Bei dem Ablesen der Pipette ist es, weil es sich dabei um eine Capillare handelt, sehr wichtig, ob man den oberen oder unteren Meniscus abliest, bei welcher Beleuchtung man das tut, gegen welchen Hintergrund man die Pipette hält, ob man mit einem Auge die Marke bestimmt, mit welchem Auge man das tut und dergleichen mehr.

Wir haben dem Rate Koeppes[81] Folge geleistet (siehe auch Hamburger[69]) und immer das Blut zu der Testflüssigkeit zugegeben,* so daß auf die hier mögliche Fehlerquelle schlechte Resultate nicht zurückgeführt werden können.

Der allerwichtigste Punkt dieser Methode, von dem auch

---

* Koeppe[81], stellt auf Grund zahlreicher Versuche fest, daß die Inkonstanz der Resultate in den Versuchen von Arrhenius und Madsen[82] darauf beruht, daß diese Autoren das Toxin zu den Blutkörperchen zugegeben haben.

das Verfahren seinen Namen führt (Zentrifugiermethode) ist das Zentrifugieren. Über die Art der Einwirkung des Zentrifugierens finden wir die meisten Angaben bei Hedin[63]. Das Defibrinieren soll nach diesem Autor steigernd auf das Sediment wirken; in gleichem Sinne auch die Verdünnung des Blutes. Wir haben die meisten unserer Versuche mit verdünntem Blutkörperchenbrei angestellt.

Nach Hedin wechselt die Zusammenpressung der Blutscheiben von Versuch zu Versuch. Diese Konstatierung ist vielleicht mit einer anderen Äußerung Hedins[62] in Zusammenhang zu bringen, daß die Blutkörperchen auch bei dem sorgfältigsten Zentrifugieren Plasma zurückhalten, was von Fall zu Fall verschieden sein kann.

Ein sehr wichtiger Faktor des Zentrifugierens ist seine Dauer. Hedin[68] meint, man soll entweder in allen Fällen eine bestimmte Zeit zentrifugieren, oder in sämtlichen Fällen bis zu einem bestimmten Niveau, bevorzugt jedoch das erste Verfahren, wenn die Umdrehungsgeschwindigkeit dabei gleich bleibt. Uns gelang es überhaupt nicht, beim Variieren nur der Zeitdauer des Zentrifugierens eindeutige Resultate zu erzielen. Im großen und ganzen reichte eine Dauer, wie schon erwähnt, von 45 Minuten vollständig aus, um Konstanz des Niveaus zu erzielen.

Es wäre hier am Platze, noch einen Punkt zu berühren, der seine Entwicklung in der Tabelle 4 fand: ich möchte nämlich noch vom Zeitraum der zwischen der Füllung der Röhrchen und dem Zentrifugieren vergeht, sprechen. Hamburger[69], wie gesagt, läßt die Trichterröhrchen nach ihrer Füllung eine Zeitlang stehen Daland[64] hält es im Gegenteil für notwendig, das bereits gemischte Blut sofort zu zentrifugieren, weil man sonst stets ein größeres Volumen erhält, als es der Wirklichkeit entspricht. Ob gerade das Stehen an sich für das Ansteigen des Volumens verantwortlich zu machen ist, erscheint uns äußerst fraglich. Eher handelt es sich um Wärmehämolyse oder Quellung aus anderen Gründen (CO_2). Vielmehr erscheint uns das Stehenlassen eher förderlich auf das Zentrifugieren zu wirken.

Große Schwierigkeiten macht die Deutung der in einigen Versuchen (siehe Tabelle 4) aufgetretenen Schichtung. Wir finden bei Genter[83] die Angabe, daß defibriniertes Blut mit höherer Blutkonzentration (mehr als 0,5) nach etwa drei Stunden Stehenlassen drei Schichten ergibt: 1. eine obere schwachgelbe, 2. eine mittlere schwachrötlich gefärbte und 3. eine untere dicke Schicht. Die Gestaltung der Genterschen Schichtung stimmt aber mit der von uns gesehenen und vorher beschriebenen absolut nicht überein.

Fassen wir noch einmal alles zusammen, so kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1. Das Volumen der roten Blutkörperchen im Blute unterscheidet sich:
   a) je nach der Tierspezies,
   b) individuell bei einer und derselben Tierart,
2. Die individuellen Verschiedenheiten können bedingt sein:
   a) durch Vermehrung oder Verminderung der Zahl der gleich großen roten Elemente in einem gegebenen Quantum Blut,
   b) durch Verschiedenheit der Größe (Durchmesser der Blutkörperchen) im einzelnen bei gleich großer Zahl. Diese Verschiedenheit kann veranlaßt sein:
      aa) durch Vergrößerung des Inhaltes bei gleich großer Membran,
      bb) durch Verdickung der Wand (als Schutzeinrichtung *)
      cc) durch Kombination von aa) und bb).
3. Jede Zelle stellt individuelle Ansprüche in bezug auf die Konzentration der sie umgebenden Flüssigkeit. Auf jede Abweichung von dieser Konzentration antwortet die Zelle je nachdem mit Quellung oder Schrumpfung.
4. Das Volumen der roten Blutkörperchen hängt von ihrer Resistenz ab, die bei einem und demselben Individuum mehr oder weniger verschieden sein kann.
5. Wenn auch nicht ausgeschlossen ist, daß die Quellung keine Vergrößerung des Volumens erfordert (Quincke[78]), so muß sie doch eine Verschiedenheit des Porenvolumens bedingen.
6. Die Volumenmessungsmethode von Hamburger ergibt Fehler, deren Ursache auch außerhalb der oben genannten Faktoren liegen kann; im besten Falle betrugen sie in unserer Hand 4—6 %.
7. Diese Fehler können verursacht sein durch:
   a) ungenaues Ablesen der Pipette,
   b) nicht genügende Nachspülung der Pipette und der Trichterröhrchen (da die eventuell geschädigten Zellen an der Wand haften bleiben können),

* Itami und Pratt[27] schreiben die Resistenzvermehrung einer Zunahme des Stromes sowie der Membran zu, einem Zustand, den sie „Pachydermie“ nennen.

c) Einleitung von CO_2 beim Ausblasen der Pipette und dadurch Steigerung der Quellungsvorgänge.

d) Bei Blutkörperchenbrei: durch die Unmöglichkeit einen von beigemengter Flüssigkeit vollständig freien Brei zu bekommen; immer bleiben verschiedene Mengen von Serum zwischen den Blutkörperchen zurück; es stört auch die Spülflüssigkeit, welche oberhalb des Zentrifugates zurückbleibt.

8. Besonders bei Versuchen mit spezifisch hämolytischem Serum kommen außer den früher genannten Punkten noch spezifische Gestaltänderungen der Erythrozyten in Betracht.

Es sei mir gestattet, zum Schlusse meiner Arbeit Herrn Prof. v. Pfaundler für die Überlassung eines Arbeitsplatzes sowie für die Übernahme des Referates meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Uffenheimer möchte ich auch an dieser Stelle für die Überlassung des Themas sowie für die weitgehende Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit meinen tiefsten Dank aussprechen.

Literatur.

1. Grawitz: Pathologie des Blutes.
2. Landsteiner und Leiner: Über Isolysine und Isoagglutinine im menschlichen Blute. Zentralblatt f. Bakteriol. Parasitenkunde und Infektionskrankheiten Bd. XXXVIII. H. 5.
3. Heubner: Ein Fall von Hämoglobinurie bei Scharlach. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 23, H. 3, S. 288.
4. Immermann: Kleine Mitteilungen. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 12, H. 1 und 2 S. 173
5. Leiner: Über Isolysine bei Infektionskrankheiten. Jahrb. f. Kinderheilkunde 1902, 56, III. Folge, Bd. 6, H. 6.
6. Ascoli: Isoagglutinine und Isolysine menschlicher Blutsera. Münchn. Med. Woch. 1901, Nr. 31, S. 1239.
7. Bezzola: Hamolyse bei Infektionskrankheiten. Ref. Jahrb. für Kinderheilkunde 1902.
8. Lang: Die Resistenz der roten Blutkörperchen gegen hyperisotonische NaCl-Lösungen bei Magenkarzinom. Zeitschr. f. Klin. Med. 1902, Nr. 47, S. 152.
9. Jacuszewsky: Zur Frage über d. klinische Beständigkeit der roten Blutkörperchen bei verschiedenen Krankheiten.
   Russ. Med. Woch. 1904.
   Ref. Folia haematolog. 1905.

10. Maragliano: Beitrag zur Pathologie d. Blutes. Verhandl. d. XI. Kongresses für innere Medizin.
11. Sattler: Über experimentell erzeugte Resistenzerhöhung der roten Blutkörperchen. Diss. Leipzig, 1910.
12. Handrik: Über die Beeinflussung der Resistenz der roten Blutkörperchen durch hämotoxische Substanzen. Deutsch. Arch. f. Klin. Med. 1912, Bd. 107, H. 4.
13. Koeppe: Über die Volumbestimmung der roten Blutkörperchen. Münch. Med. Woch. 1893, Nr. 24, S. 452.
14. Nägeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik.
15. H. Sachs: Die Hämolysine und ihre Bedeutung für die Immunitätslehre. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse f. pathol. Anatomie, VII. Jahrg., 1902.
16. Duncan: Sitzungsbericht der Akademie d. Wissenschaft zu Wien 1867.
17. Chanels: Recherches sur la résistence des haematies. Thèse doct. Lyon 1880.
18. Maragliano: Beiträge zur Pathologie des Blutes. Berl. Klin. Woch. 1892.
19. Landois: Lehrbuch d. Physiologie.
20. Hamburger: Physiolog. NaCl. und Volumbestimmung der körperlichen Elemente im Blute. Zentralblatt für Bakteriologie 1893. S. 161 und 656.
21. v. Limbeck: Grundriß einer klinisch. Pathologie des Blutes. Jena, 1892.
22. Strauß: Resistenz bei Icterus. Diss. Straßburg 1908.
23. Babucke: Die Bedeutung d. Gärtnerschen Hämatokrits. Diss. Königsberg 1896.
24. Ribierre: De la résistence des Globules rouges et de ses variations.
25. Jacuszewitz: Das Resistenzvermögen der roten Blutkörperchen bei Gesunden und Kranken. Diss. Charkow 1904.
26. Jacoby: Beiträge zur chem. Physik und Pathologie von Hofmeister 1905, Bd. VI.
27. Itami und Pratt: Über Veränderungen der Resistenz u. d. Stromas d. rot. Blutkörperchen bei experimenteller Anämie. Biochem. Zeitschrift 1909. Nr. 18.
28. Friedberger und Doepner: Beeinflußt die Darreichung von Alkohol die Resistenz der roten Blutkörperchen gegen hämolytische Sera? Zeitschr. f. Bakteriol. 1908, Bd. 46.
29. v. Limbeck: Zur Lehre der Wirkung der Salze. Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak. 1896, Bd. 25, H 1, S. 69.
30. — Über die Art der Giftwirkung der chlorsauren Salze. Arch. f. exper. Pathol. und Pharmak. 1896, Bd. 26, H. 1 und 2, S. 39.
31. Hamburger: Über die durch Salz- und Zuckerlösungen bewirkten Veränderungen d. Blutkörperchen. Arch. f. Physiol. 1887, Nr. 31.
32. — Über Verschiedenheit des Maßes der isotonischen Konzentration nicht nur für verschiedene Salze, sondern auch für verschiedene Tiere. Arch. f. Physiol. 1886.
33. Mosso: Blutkörperchen und Gerinnung. Zentralbl. f. Phys. 1887, Nr. 5, S. 115.
34. v. Limbeck: Klinische Beobachtungen über die Resistenz der rot. Blk. und die Isotonieverhältnisse des Blutserums bei Krankheiten. Prag. Med. Woch. 1890, Nr. 28 und 29.
35. Hamburger: Über den Einfluß geringer Quantitäten Säure und Alkalien auf d. Volum d. rot. und weißen Blutkörperchen. Arch. f. Anat. und Physiol. 1898.

36. — Die Permeabilität d. rot. Blutkörperchen im Zusammenhange mit d. isotonischen Coefficienten. Zeitschr. f. Biologie 1890.
37. Koeppe: Die Volumensänderungen d. roten Blutkörperchen in Salzlösungen. Arch. f. Anat. und. Physiol. 1899. (Physiol. Abt.)
38. Janse: Die Permeabilität d. Protoplasmas.
39. Köppe: Über Hämolyse. XXI. Kongr. f. innere Med. 1904.
40. Ponfick: Über Hämoglobinämie und ihre Folgen. Verhandl. d. Kongress. f. innere Med. 1883, S. 205.
41. Rausom: Saponim und sein Gegengift. Deutsche Med. Woch. 1901.
42. Ehrlich und Morgenroth: Zur Theorie der Lysinwirkung. Berl. klin. Woch. 1899, Nr. 1.
43. Ehrlich und Lazarus: Die Anämie. Spez. Pathologie und Therapie von Nothnagel. VIII. Bd., 1. T., H. 1.
44. Madsen: Über Tetanolysin. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 32, H. 2.
45. Kraus und Clairmont: Über Hämolysine und Antihämolysine. Wien. Klin. Woch. 1900, Nr. 3.
46. Rössle: Morpholog. Veränderungen d. roten Blutkörperchen durch inaktiviertes spezifisch lytisches Serum. Münch. Med. Woch. 1904. Nr. 42, S. 1865.
47. Neisser: Über die Vielheit der im normalen Serum vorkommenden Antikörper. Deutsche Med. Woch. 1900.
48. Neisser und Wechsberg: Über d. Staphylotoxin. Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXXV.
49. Welcker: Methode der mikroskopisch gemessenen Dimensionen der roten Blutkörperchen. Zeitschr. f. rationelle Med. Bd. XX, III. Reihe, 1863.
50. Makaroff: De la résistence des globules rouges. Les supplements medicaux du rec. natique. Aût et Septembre 1904.
51. Cohnreich: Klinische Bestim. d. Erythrocytenresistenz, besonders im Dienste d. Carzinomdiagnose. Fol. haematol. Bd. 16, H. 3. 1913.
52. Laker: Über eine neue klinische Blutuntersuchungsmethode. Wien. Med. Presse 1890, Nr. 35, S. 1375.
53. Rollet: Physiologie d. Blutes. Herrmanns Handbuch d. Physiol. Bd. IV.
54. Bernstein: Über d. Einfluß der Salze auf die Lösung d. rot. Blutkörperchen durch verschiedene Agentien. Tagebl. d. Natur-Vers. zu Magdeburg 1884, S. 96.
55. Oker-Blom: Tierische Säfte und Gewebe in physikal.-chemischer Beziehung. Pflügers Arch. 1910, Nr. 79.
56. Fränkel: Über die Bestimmung d. Blutkörperchenvolumens aus d. elektr. Leitfähigkeit. Zeitschrift f. klin. Med. 1904, Bd. 52, H. 5 und 6.
57. Bleibtreu: Kritisches über den Hämatokrit. Berl. Klin. Woch. Nr. 30 und 31, 1893.
58. Bunge: Bestimmung d. Volumens d. rot. Blutkörperchen dem Gehalte nach an Natron. Zeitschr. f. Biologie, Bd. XII, 1876.
59. Böninger: Die Bestimmung des Blutkörperchenvolumens. Berl. Klin. Woch. 1909, Nr. 4.
60. Liebermann und Fillinger: Über Resistenz d. Erythrocyten bei gesunden und kranken Menschen nebst einer einfachen Methode zu ihrer Bestimmung. Deutsche Med. Woch. 1912, Nr. 10.
61. Kottmann: Über die Viskosität des Blutes. Korresspondenzbl. f. Schweizer Ärzte, 1907, Nr. 21. S. 102.
62. Hedin: Der Hämatokrit. Skand. Arch. f. Physiol. 1891.
63. Gärtner: Über Verbesserung d. Hämatokrits. Berl. Klin. Woch. 1892, Nr. 36, S. 890.
64. Daland: Über d. Volum d. rot. und weißen Blutkörperchen im

Blute d. gesunden und kranken Menschen. Fortschritte d. Medizin, 1891, Bd. 19. S. 823 und 867.
65. Biernacki: Über die Beziehungen des Plasmas zu den roten Blutkörperchen und über d. Wert verschiedener Methoden der Blutkörperchenvolumbestimmung. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1894, Bd. 19, S. 179.
66. Hamburger: Eine Methode zur Bestimmung d. osmothischen Druckes sehr geringer Flüssigkeiten. Biochem. Zeitschr. 1906, Bd. I.
67. Koeppe: Hämotokrit von H. Koeppe. Münch. Med. Woch. 1893, S. 329.
68. Hedin: Über d. Brauchbarkeit d. Zentrifugalkraft f. quantitative Blutuntersuchungen. Pflüg. Arch. f. die ges. Phys. 1895, Bd. 60.
69. Hamburger: Osmotischer Druck und Ionenlehre. Berlin, 1912.
70. Friedheim: Über die Volumbestimmung der rot. Blutkörperchen vermittelst d. Gärtnerschen Hämatokrits uund d. Kreiselzentrifuge. Berl. Klin. Woch. 1893, Nr. 4, S. 85.
71. Küster: Logarithmische Rechentabellen für Chemiker usw. 14. Aufl.
72. Koeppe: Über d. Quellungsgrad d. roten Blutkörperchen durch aequimolekulare Salzlösungen u. über d. osmotischen Druck d. Blutplasmas. Arch. f. Anatomie u. Physiol. (Phys. Abt.) 1895, S. 159.
73. Hamburger: Die physiologischen Kochsalzlösungen und die Volumbestimmung der körperlichen Elemente im Blute. Zentralbl. f. Physiol. 1893, Bd. VII, Nr. 6.
74. — Über den Einfluß d. Atmung auf die Permeabilität der roten Blutkörperchen. Zeitschr. f. Biologie. N.F., 8, Nr. 4.
75. Zuntz: Beiträge zur Pathologie d. Blutes. Bonn 1868.
76. Koeppe: Der osmotische Druck als Ursache des Stoffaustausches zwischen roten Blutkörperchen und Salzlösungen. Pflüg. Arch. f. Physiol. 1897, S. 189.
77. Weihrauch: Resistenzbestimmung d. Erythrocyten bei Tuberkulose. Deutsche med. Woch. 1913, Nr. 18, S. 895.
78. Quincke: Über Imbibition. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 32, H. II.
79. Wiedemann und Lüdeking: Über die Wasseraufnahme und Lösung der Colloide. Wiedemanns Annalen f. Physik und Chemie. Bd. XXV., N.F., H. 6, S. 145.
80. Ludwig: Lehrbuch d. Physiologie. Bd. I.
81. Koeppe: Zur Anwendung der physikal. Chemie auf das Studium d. Toxine und Antitoxine u. d. Lackfarbenwerden roter Blutkörperch. Arch. f. ges. Physiol. Bd. 103, 1904.
82. Arrhenius und Madsen: Anwendung d. physikal. Chemie auf d. Studium d. Toxine und Antitoxine. Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 44, H. 1, S. 7.
83. Genter: Beiträge zur Permeabilität der roten Blutkörperchen. Karlsruhe 1893.

Tabelle 1

Nachprüfung der Hamburger'schen Methodik. Volumbestimmung von Blut in verschieden concentrierten NaCl-Lösungen.

Lfd. No.	Art des Blutes	Frisches od. altes Blut	Filtriert oder nicht	Pipetten-Füllung mit Blut	NaCl -Lösung %	Dauer des Centrifugier.	Resultat N No. der HKK-Röhrchen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Besondere Bemerkungen
1	Rinder	frisch.	nicht filtr.	0.04	0.9	15'					95	95	95	98					
2	"	"	"	"	1—4 0.9 5—8 0.85	1—4 15' 5—8 5'	93	97	100›	98	100›	100›	100›	100›					
3	"	"	"	0.02	0.85	15'									49.5	49.5	48	45	
4	"	"	"	0.04	"	"					93	100›	100›	100›					
5	"	"	"	0.02	"	"	59	57	59	59									
6	"	"	"	"	"	"					51	51	50.5	50					
7	Schweine	"	"	0.04	"	10'									51.5	51	51	50.5	
8	1—4 Hammel 5—8 Pferde 9—12 Rinder	"	"	"	"	15'	100›	100›	100›	97	92	97	100›	92	97	99	98	97	
9	Rinder	"	"	"	"	1—4 10' 5—8 13'	100	98	94	100›	99	94	100›	98					
10	1—4 Hammel 9—12 Pferde	"	"	"	"	15'	44	43	42	42					90	93	92	90	
11	Rinder	"	filtriert	"	"	"	39	35	37	37									
12	Pferde	"	"	5—8 0.02 9—12 0.04	"	5—8 10' 9—12 15'					15	15.5	16	16	99	97	97	98	
13	Hammel	"	"	0.04	"	1—4 1' 5—8 15'	70	70	68	66.5	81.5	80.5	80	80.5					
14	Menschen	"	"	1—2 und 5—12 0.05 3—4 0.04	"	15'	100›	100	99	99	100›	100›	100›	100›	67	61	60	60 5	
15	1—4 Hammel 5—8 Mensch.	"	"	0.05	"	"	47	45	45	45	68	68	69	69					Vor dem Centrifugier. 1h b|Zimmertemperatur
16	Kaninchen	"	nicht filtr.	1—4 0.05 5—7 0.04	-	1—4 15'	42	48	41 5	42 5	80	85 5	85	40					

Lfd. N	Art des Blutes	Frisches altes B	Filtriert oder nicht	Pipetten-Füllung mit Blut	NaCl -Lösung %	Dauer des Centrifugier.	Resultat N No. der HKK-Röhrchen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Besondere Bemerkungen
17	Kaninchen	frisch.	nicht filtr.	1—4 0.02 9—12 0.04	0.85	1—4 15' 9—12 45'	42	42	40	40					89	87	87	87	Vor dem Centrifugier. 1b b. Zimmertemperatur
18	Menschen	,,	,,	0.05	,,	1—4 7' 5—8 10' 9—12 15'	59	58	57.5	58.5	56	56.5	57.5	56	56.5	55.5	56	57	,,
19	Kaninchen	,,	,,	0.04	,,	1'h	77.5	77	77	76.5									Nur mit d. rechten Auge abgelesen
20	Rinder	,,	,,	,,	,,	1—4 u. 9—12 15' 5—8 30'	98	98	98	97	98	96	96	96	98	97	100	99	Nur mit dem linken Auge abgelesen
21	Menschen	,,	,,	1—8 0.04 9 0.02	,,	1—8 45' 9 30'	81	79	79	79	79	77	77	77	39.7				,,
22	Pferde	,,	,,	0.04	0.9	45'					42	41.5	41.5	41.5	57	52	50.5	50.5	Vor dem Centrifugier. 1h b. Zimmertemperatur
23	,,	,,	,,	,,	5—8 0.9 9—12 0.6	35'					40.5	39	41.5	41	51.5	51.5	51	51.5	,,
24	,,	,,	filtriert	,,	,,	5—7 u. 9—11 15' 8 u. 12 20'					30	29	29	29	38	38	38	37	,,
25	,,	2 Tage	,,	,,	0.9	8'	36	36	36	36	41 5	41	39.5	39.5					
26	,,	,,	,,	,,	,,	13'	35	35	35	35	38	38	39	38					
27	,,	,,	,,	,,	,,	15'	31	31	31	31	37	37	38	37					
28	,,	,,	,,	,,	,,	20'	34	34	34	34	36	36	36	37					
29	,,	,,	,,	,,	,,	50'					33	33	34	33					
30	,,	,,	,,	,,	,,	1h					33	33	33	33					
31	,,	,,	,,	,,	,,	25'	33.5	33	33	33.5	36	36	37	36					
32	,,	,,	,,	,,	,,	30'	33.5	33	33	33.5	35	35	36	35					

Lfd. No.	Art des Blutes	Frisches od. altes Blut	Filtriert oder nicht	Pipetten-Füllung mit Blut	NaCl-Lösung %	Dauer des Centrifugier.	Resultat N No. der HKK-Röhrchen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Besondere Bemerkungen
33	Pferde	2 Tage	filtriert	0.04	0.9	35'	33	33	33	33	35	34.5	35	34.5					
34	„	„	„	„	„	45'	33	33	33	33	33.5	33.5	34.5	33.5					
35	„	frisch.	„	„	„	15'					43	43	43.5	44					
36	„	1 Tag	nicht filtr.	„	„	„					45	46	45	44					In den Röhrchen 9—12 ist Hämolyse eingetreten, weshalb d. Zahl nicht abzulesen war
37	„	„	„	„	„	20'					44	44.5	44	44					
38	„	„	„	„	„	25'					43	43	42	44					
39	„	„	„	„	0.6	15'									48.5	47	46	46.5	
40	„	„	„	„	„	30'									45	44	44	44	
41	„	„	„	„	„	40'									44	43	43	43	
42	„	„	„	„	„	1—4 35' 5—8 45'	38	38.5	38	38	38	38.5	38	38					
43	„	„	„	„	„	1—4 60' 5—8 75'	38	38	38	38	37.5	37.5	37.5	37.5					
44	„	„	„	„	„	„	41	40.5	41.5	40	39.5	40	40.5	39					
45	„	„	„	„	„	1—4 70' 5—8 90' 9—12 110'	43	42	42.5	41.5	42.5	41.5	42	41.5	41.5	40.5	41	41.5	
46	„	„	„	„	„	2h	41	40	40.5	40									
47	„	„	filtriert 1, 2, 7, 8	„	1—2 u. 9—10 0.9 3—8 u. 11—12 0.6	1—8 15' 9—12 30'	31.5	31	60	60	60	60	40	40	29	29	28	28	In 1 cbmm aus R 2 2.700.000 Zellen
48	„	„	nicht filtr.	„	1—4 0.9 5—8 0.6	1—2 u. 5—6 15' 3—4 u. 7 8 30'	74.5	72	69	68	98	92	89	87					In 1 cbmm aus R 6 5.160.000 Zellen
49	„	4 Tage	„	„	0.9	1—3 15'	59	59	50		36	36	27	27					

lut in honologem Serum.

Lfd. No.	12	Besondere Bemerkungen
1	26	
2		1 u. 5: 100% Serum 2 u. 6: 80 „ „ + 20% H_2O 3 u. 7: 60 „ „ + 40 „ „ 4 u. 8: 50 „ „ + 50 „ „
3	34.5	
4	39.5	
5		
6	45.5	
7	45	
8	38.5	
9	38	
10	24	
11	42	
12	30	
13		Das Blut in den Röhrchen 1—4 nicht filtriert

Lfd. No.	Art des Blutes	Frisches od. altes Blut	Filtriert oder nicht	Pipetten-Füllung mit Blut	NaCl -Lösung %	Dauer des Centrifugier.	Resultat N No. der HKK-Röhrchen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Besondere Bemerkungen
33	Pferde	2 Tage	filtriert	0.04	0.9	35'	33	33	33	33	35	34.5	35	34.5					
34	„	„	„	„	„	45'	33	33	33	33	33.5	33.5	34.5	33.5					
35	„	frisch.	„	„	„	15'					43	43	43.5	44					
36	„	1 Tag	nicht filtr.	„	„	„					45	46	45	44					In den Röhrchen 9—12 ist Hämolyse eingetreten, weshalb d. Zahl nicht abzulesen war
37	„	„	„	„	„	20'					44	44.5	44	44					
38	„	„	„	„	„	25'					43	43	42	44					
39	„	„	„	„	0.6	15'									48.5	47	46	46.5	
30	„	„	„	„	„	30'									45	44	44	44	
31	„	„	„	„	„	40'									44	43	43	43	
32	„	„	„	„	„	1—4 35' 5—8 45'	38	38.5	38	38	38	38.5	38	38					
33	„	„	„	„	„	1—4 60' 5—8 75'	38	38	38	38	37.5	37.5	37.5	37.5					
34	„	„	„	„	„	„	41	40.5	41.5	40	39.5	40	40.5	39					
35	„	„	„	„	„	1—4 70' 5—8 90' 9—12 110'	43	42	42.5	41.5	42.5	41.5	42	41.5	41.5	40.5	41	41.5	
36	„	„	„	„	„	2h	41	40	40.5	40									
37	„	„	filtriert 1, 2, 7, 8	„	1—2 u. 9—10 0.9 3—8 u. 11—12 0.6	1—8 15' 9—12 30'	31.5	31	60	60	60	60	40	40	29	29	28	28	In 1 cbmm aus R 2 2.700.000 Zellen
38	„	„	nicht filtr.	„	1—4 0.9 5—8 0.6	1—2 u. 5—6 15' 3—4 u. 7—8 30'	74.5	72	69	68	98	92	89	87					In 1 cbmm aus R 6 5.160.000 Zellen
39	„	4 Tage	„	„	0.9	1—3 15'	59	59	59		36	36	37	37					

Tabelle 2. Nachprüfung der Hamburger'schen Methodik. Volumbestimmung von Blut in honologem Serum.

Lfd. No.	Art des Blutes	Frisches oder altes Blut	Blutmenge	Nachgesehen dieselben Röhrchen nach	Constante Säule nach	Resultat No No der HKR-Röhrchen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Besondere Bemerkungen
1	Pferde	frisches	0.06	R 1—4 10', 20', 30', 40', 45'	1—4 45', 5—8 35', 9—11 15', 12 20'	38	38	38	38	40.5	41	41.5	40.5	29	29	29	26	
2	„	„	„	„	45'	30	46.5	51.5	55	29	47	52	55					1 u. 5: 100% Serum 2 u. 6: 80 „ „ + 20 3 u. 7: 60 „ „ + 40 4 u. 8: 50 „ „ + 50
3	„	2 Tage alt	„	R 1—4: 8', 13', 15', 20', 25', 30', 35', 45'	1—4 8', 5—8 13', 9—12 15'	36	36	36	36	35	35	35	35	34.5	34.5	34.5	34.5	
4	„	„	„	„	1—4 20', 5—8 25', 9—12 30'	34	34	34	34	33.5	33.5	33.5	33.5	39.5	39.5	39.5	39.5	
5	„	„	„	R 1—4: 15', 20', 25', 30', 35', 45', 50'	1—4 35', 5—8 45'	33	33	33	33	33	33	33	33					
6	„	frisches	„	„	1—4 45', 5—8 20', 9—12 25'	47	47	47	46	47	46	46.5	46.5	46.5	46	46	45.5	
7	„	„	„	R 1—4: 15', 20', 25', 30', 35', 45', 60'	1—4 30', 5—8 35', 9—12 45'	46	45	46	45	46	45.5	45	45.5	45	46	45	45	
8	„	1—4 frisch 5—12 1 Tag alt	„	R 1—4: 15', 20', 25', 30', 35', 45', 50', 60'	1—4 50', 5—8 15', 9—12 20'	45.5	44.5	45	44.5	39	39	39.5	39	38.5	39	38.5	38.5	
9	„	„	„	„	1—4 25', 5—8 30', 9—12 35'	38.5	39	38.5	38.5	38	38.5	38	38	38	38.5	38	38	
10	„	1—8 1 Tg. alt 9—12 4 „ „	„	„	1—4 35', 5—8 60', 9—12 35'	38	38	38	38	37.5	37.5	37.5	37.5	24	24	24	24	
11	„	1—4 4 Tg. alt 5—12 3 „ „	„	„	1—4 35', 5—8 30', 9—12 15'	36	36	36	37	41.5	47	55.5	55	42	42	42	42	
12	„	1—4 4 Tg. alt 9—12 1 „ „	„	R 1—4: nach 45', 60'	1—4 45', 9—10 15', 11—12 30'	41	45	45	44					30.5	27	30	30	
13	„	1 Tag alt	„		1—2 15', 3—4 30', 5—6 16', 7 30'	61	60	60	60	30.5	27	30						Das Blut in den Röhrchen filtriert